

博士論文

長時間持久性運動パフォーマンスに  
タウリン投与が及ぼす影響

平成23年度

石倉 恵介

筑波大学

## 目次

用語解説	ix
I. 緒言	1
II. 文献研究	5
1. タウリンの代謝と生体内分布	5
2. 筋収縮とタウリン	6
A. 骨格筋タウリン濃度	6
B. 脊髄の運動ニューロンに対するタウリンの作用	6
C. 骨格筋収縮に及ぼすタウリンの作用	7
D. $\text{Ca}^{2+}$ の動態とタウリンの作用	8
E. 筋収縮および運動による組織タウリンの変化	8
3. エネルギー代謝に及ぼすタウリンの作用	10
A. 糖質代謝への影響	10
B. 脂質代謝への影響	12
C. アミノ酸代謝への影響	14
4. タウリンの運動パフォーマンスへの影響	16
A. タウリン投与による運動パフォーマンスへの影響	16
B. タウリン枯渇による運動への影響	18
5. アミノ酸投与による運動への影響	18
6. 様々な病態に対するタウリンの作用	19
A. 肝疾患とタウリン	19
B. 糖尿病とタウリン	20
C. 高血圧とタウリン	22
7. 文献研究からの課題設定	22
III. 研究の目的と課題	25

#### IV. タウリン投与が長時間運動に伴う血糖低下に及ぼす影響 (研究課題 1)

1. 目的	27
2. 方法	28
A. 被験者	28
B. オールアウトテスト	30
C. タウリン投与	33
D. 実験プロトコル	33
E. 測定項目	34
(1) ガス分析	34
(2) 生化学的測定項目	34
(3) 主観的運動強度	37
F. 統計処理	37
3. 結果	38
A. 生化学的測定項目	38
(1) 血漿タウリン	38
(2) 血糖	38
(3) 血漿ノルアドレナリン・アドレナリン	41
(4) 血清遊離脂肪酸・インスリン, 血中乳酸, 血漿 BCAA・グル カゴン	41
B. 主観的運動強度 (RPE)	44
C. 呼吸交換比	44
4. 考察	44
5. 小括	50

#### V. タウリン投与と長時間持久性運動が骨格筋および肝臓に おけるアミノ酸濃度変化に及ぼす影響 (研究課題 2)

1. 目的	52
-------	----

2-1. 方法	56
A. 被験動物および飼育条件	56
B. 群分け	56
C. タウリン投与	56
D. 走運動実験	57
i) 走行学習	57
ii) 走運動負荷	57
E. 組織の採取	57
F. タウリンおよび血糖分析	59
G. 統計処理	59
2-2. 方法	59
A. 被験動物および飼育条件	59
B. 群分け	60
C. タウリン投与	60
D. 走運動実験	60
E. 組織の採取	60
F. アミノ酸分析	61
G. 統計処理	61
3-1. 結果	62
A. 体重変化および摂水量, 摂食量, タウリン投与量	62
B. 疲労困憊に至る運動時間	62
C. タウリン濃度	62
D. 血糖値	66
E. 腓腹筋タウリン濃度と走行時間の相関	66
3-2. 結果	66
A. 体重変化および摂水量, 摂食量, タウリン投与量	67
B. 2週間投与におけるアミノ酸濃度	70
C. 3週間投与実験	70

i) タウリン投与によるスレオニン・セリン・グリシン濃度変化	72
ii) 走運動負荷によるスレオニン・セリン・グリシン酸濃度変化	75
iii) タウリンとスレオニン・セリン・グリシン・アラニン濃度の相関	80
iv) 骨格筋スレオニン・セリン・グリシン濃度と走行時間の相関	80
4. 考察	80
5. 小括	86

## VI. アミノ酸代謝ならびに血糖調節に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響（研究課題 3）

1. 目的	87
2. 方法	88
A. 被験動物および飼育条件	88
B. 群分け	88
C. タウリン投与	88
D. 組織の採取	89
E. Total RNA の抽出	89
F. Microarray 解析	90
3. 結果	90
A. タウリン投与による骨格筋遺伝子発現の変化	90
B. スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素遺伝子発現の変化	90
C. 糖代謝の遺伝子発現の変化	90
4. 考察	92
5. 小括	94

VII. 討 論 . . . . .	95
1. 本研究の目的 . . . . .	95
2. 本研究で得られた知見 . . . . .	97
3. 長時間持久性パフォーマンスに及ぼすタウリン投与の影響に 関する考察 . . . . .	99
4. 今後の課題 . . . . .	105
5. 本研究の限界 . . . . .	106
 VIII. 結 論 . . . . .	 107
 IX. 謝 辞 . . . . .	 110
 X. 文 献 . . . . .	 111

本博士論文は、以下の原著論文二編に加筆修正し、現在までの研究結果を加えてまとめたものである。

**1. 長時間運動に伴う血中グルコース低下に及ぼすタウリン投与の影響**

石倉恵介，宮川俊平，矢田部佳久，竹越一博，大森肇

体力科学 57: 475-484, 2008. 【研究課題 1】

**2. EFFECT OF TAURINE SUPPLEMENTATION ON THE ALTERATIONS IN AMINO ACID CONTENT IN SKELETAL MUSCLE WITH EXERCISE IN RAT.**

Keisuke Ishikura, Teruo Miyazaki, Song-Gyu Ra, Shoji Endo, Yusuke Nakamura, Takashi Matuszaka, Shumpei Miyakawa, Hajime Ohmori.

Journal of Sports Science and Medicine 10, 306-314, 2011.

【研究課題 2】

## List of Tables

- Table 1. Characteristics of the subjects
- Table 2. Serum FFA and insulin, blood lactate acid and plasma BCAA and glucagon levels before and after cycling for 120 min at 50%  $\text{VO}_{2\text{max}}$  after 7 days non-supplemented or taurine-supplemented
- Table 3. Learn to run protocol
- Table 4. Amino acid concentrations in the white portion of gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks
- Table 5. Amino acid concentrations in the red portion of gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks
- Table 6. Relative value of amino acid concentrations in the separating nutritional essential and nonessential in the gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks
- Table 7. Relative value of amino acid concentrations in the separating glucogenic and ketogenic precursor in the gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks
- Table 8. Correlation coefficients between the concentrations of taurine and each pyruvate precursor amino acid in the tissues and plasma following taurine supplementation for 3 weeks
- Table 9. Gene expression changes of serine, glycine and threonine metabolism in rat skeletal muscle following two weeks taurine supplementation
- Table 10. Gene expression changes of glycolysis and gluconeogenesis metabolism in rat skeletal muscle following two weeks taurine supplementation



## **List of Figures**

- Figure 1. Maximal exercise test protocol.
- Figure 2. Typical sample of calculation of relative work load.
- Figure 3. Protocol of experiment.
- Figure 4. Experimental scenery.
- Figure 5. Changes in plasma taurine concentrations.
- Figure 6. Changes in blood glucose concentrations.
- Figure 7. Changes in plasma catecholamine concentrations.
- Figure 8. Changes in RPE.
- Figure 9. Changes in RER.
- Figure 10. Body weights following taurine supplementation for three weeks.
- Figure 11. Times of exercise to exhaustion on a treadmill in non-supplied and taurine-supplied group.
- Figure 12. Taurine concentration in gastrocnemius muscle.
- Figure 13. Changes in blood glucose concentrations.
- Figure 14. Correlation of taurine concentration in gastrocnemius muscle after exercise to exhaustion with exercise time.
- Figure 15. Body weights following taurine supplementation for two weeks.
- Figure 16. Threonine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise.
- Figure 17. Serine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise.
- Figure 18. Glycine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise.
- Figure 19. Alanine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise.
- Figure 20. Correlation of glycine concentrations in gastrocnemius muscles after exercise to exhaustion with exercise time.

## 用語解説

### ATP

アデノシン三リン酸のことで、生物体で用いられるエネルギー保存および利用に関与するヌクレオチドのことである。

### BCAA

ロイシン，バリン，イソロイシンの3つのアミノ酸の総称で，炭素骨格に分岐構造をもつ必須アミノ酸．骨格筋タンパクに含まれる必須アミノ酸の約 35%を占めている．また，哺乳動物の食事中の必須アミノ酸の約 40%を占めるアミノ酸でもある．

### GES

Guanodinothane sulfonate．タウリンの構造類似体で，タウリントランスポーターの阻害剤．

### GLUT4

骨格筋におけるインスリン依存性糖取り込みの大部分を担っている糖輸送担体のことである．

### *in vitro*

ラテン語の「ガラスの中で」という言葉に由来し，意味は「試験管内で」である．

### *in vivo*

ラテン語の「生体内で」という意味である．

### Microarray

マイクロアレイ．DNAなどを微小スポットで高密度に配置した基板のことで一度に数万個もの遺伝子発現を解析する方法．

## **mRNA**

メッセンジャーRNA. DNA 情報を転写し, 情報をリボソームへ運送する一本鎖の核酸のことである.

## **LPO**

Lipid peroxide: 過酸化脂質. 活性酸素によって過度に酸化されて生じる物質である.

## **グルコース-アラニン回路**

筋内で酸化された BCAA の C 骨格はエネルギー源となり, 最終的には CO<sub>2</sub> となる. N はグルコース由来のピルビン酸にアミノ基を転移してアラニンを形成し肝臓に運ばれ, 肝臓にてアラニンはアミノ基を放出し, ピルビン酸となり糖新生されグルコースとして肝臓から放出される回路のことである.

## **グルタチオン**

抗酸化物質であり, 通常は 90%以上の還元型グルタチオン (GSH)と 10%以下の酸化型グルタチオン (GSSG)が存在する. 酸化ストレスが増大すると GSSG と GSH の比率が増加する.

## **ケト原性アミノ酸**

脱アミノ (アミノ基転移による場合を含む) を受けた後, 炭素骨格部分がケトン体のアセト酢酸あるいはアセチル-CoA として, クエン酸回路の中間体としてクエン酸回路に入るアミノ酸のことである.

## **TAUT (taurine transporter)**

タウリントランスポーター. タウリンを細胞外から細胞内に輸送する輸送体である.

## **TBARS**

チオバルビツール酸反応物質 (Thiobarbituric Acid Reactive Substances ; TBARS). このチオバルビツール酸と反応して赤色の色素を生成する物質は、油脂や生体組織の過酸化度を示す指標とされる.

## **ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体**

ピルビン酸をアセチル CoA に変換 (ピルビン酸脱炭酸反応) する 3 つの酵素の複合体である. アセチル CoA はクエン酸回路に送られて細胞呼吸に使われており, この複合体は解糖系とクエン酸回路とを繋げている.

## **糖原性アミノ酸**

脱アミノ (アミノ基転移による場合を含む) を受けた後, 炭素骨格部分がピルビン酸, オキサロ酢酸, フマル酸, スクシニル CoA,  $\alpha$ -ケトグルタル酸に変換されクエン酸回路に入るアミノ酸のことである.

## **糖新生**

血糖が低下した場合, ピルビン酸, 乳酸, 糖原性アミノ酸などの糖質以外の物質から, グルコースを生産する経路である. ほとんどは肝臓において行われるが, 一部は腎臓でも行われる. 絶食時や長時間運動時には糖新生が亢進する.

## I. 緒言

運動時の疲労はパフォーマンスの低下を引き起こす。Newsholme and Blomstrand (1996)によれば疲労の代謝的要因は 5 つある。それは、1) クレアチンリン酸の枯渇、2)筋中陽イオンの蓄積（代謝性アシドーシス）、3)筋グリコーゲンの枯渇、4)血糖の低下、5)血漿遊離トリプトファン／BCAA 比の上昇である。運動が長時間に渡る場合には、疲労の要因は上述の 3),4),5)に絞ってよいと考えられる。その長時間持久性運動時の疲労を軽減する栄養的戦略として、運動前、運動中の糖質の摂取は血糖の低下を防ぎ、筋グリコーゲンの減少を遅らせることによって疲労を遅延させ、ひいては持久性パフォーマンスを改善することができる (Coyle and Mountain, 1992)。この糖質の摂取は、エネルギー源の基質として脂質分解を抑制することから、血漿中の遊離トリプトファン濃度を低下させ、その結果、血漿遊離トリプトファン／BCAA 比の上昇を抑制することも報告されている (Meeusen *et al.*, 2006)。この様に運動時の疲労原因を抑制し、パフォーマンス向上を狙ったサプリメントは多い。中でもアミノ酸サプリメントは数多く報告され、これらは必須アミノ酸に限ったことではない。例えばクレアチンは高強度の運動パフォーマンスを向上させることやトレーニング中の除脂肪体重を増加させる (Buford TW *et al.*, 2007)。BCAA 投与は、血漿 BCAA 濃度を上昇させ、血漿遊離トリプトファン／BCAA 比の上昇を抑制する。また、BCAA 投与はピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体を刺激し運動中のグリコーゲンを節約 (Simomura *et al.*, 2000)し、肝臓と骨格筋のグリコーゲン量を高める (de Araujo *et al.*, 2006)など糖代謝へも影響する。また、長時間運動中、アミノ酸はエネルギー源としても利用さ

れる．BCAAは骨格筋で酸化され (Rennie *et al.*, 2006)，その他のアミノ酸の一部は糖新生として利用される．糖新生系の一つとしてグルコースアラニン回路があり，これは骨格筋タンパク質由来のアミノ酸が分解され，アラニンとして肝臓に運ばれ代謝されるものである．運動中のグルタミン投与は，このグルコースアラニン回路を刺激し，肝臓によるアラニン・グルタミンの取り込みを高め糖産生を亢進する (Iwashita *et al.*, 2005)．

栄養ドリンクの多くに含まれるタウリンは，日本国外においてはサプリメントとしても利用されている．このタウリンは，哺乳動物の中枢神経組織や心臓，骨格筋など多くの組織に存在する含硫アミノ酸の最終代謝産物であり，生体内においては大部分がタンパク質に取り込まれない遊離の状態で存在し，その他のアミノ酸よりも高濃度である (Jacobsen *et al.*, 1968)．タウリンは，胆汁酸縫合作用 (Sjovall, 1959)，血圧降下，(Nara *et al.*, 1978; 尾崎ら，1980; 丹羽ら，1981)，膜安定化 (Pierno *et al.* 1994; De Luca *et al.* 1996)， $\text{Ca}^{2+}$ のホメオスタシス (Huxtable *et al.* 1973; Bakker *et al.* 2002)，神経伝達 (Davison *et al.* 1971)，神経調節 (Kuriyama, 1980; Huxtable, 1992) など多様な生理作用が報告されている．さらにタウリンの病態時の糖・脂質代謝へ及ぼす影響に関する報告が集積しつつある．糖尿病動物にタウリンを投与すると，脂質酸化を抑制しトリグリセライド (triglyceride : TG)や低密度リポタンパク質 (low density lipoprotein : LDL)コレステロールの低下 (You and Chang, 1998)，血糖の低下 (Kaplan *et al.*, 2004)，インスリン感受性の改善 (Harada *et al.*, 2004 ; Nandhini *et al.*, 2005)などが報告されている．

骨格筋タウリン濃度は、骨格筋にタウリン生合成能がないため、タウリントランスポーター (taurine transporter: TAUT)によって維持されている (Ramamoorthy *et al.*, 1994). また骨格筋タウリン濃度は、他の組織に比べ高濃度であり、速筋に比べ遅筋において高濃度である (Iwata *et al.*, 1986; Turinsky *et al.*, 1990). このことから、骨格筋の生理学的機能にタウリン濃度の筋線維タイプの相違が関与する可能性も推察される. さらに、ラットに疲労困憊まで走行を負荷すると、速筋優位筋で顕著に骨格筋タウリン濃度は低下する (Matsuzaki *et al.*, 2002). 加えて、タウリンを投与すると、この運動による骨格筋タウリン濃度減少が抑制されて疲労困憊までの走行時間が延長するとの報告もある (Yatabe *et al.*, 2003; Miyazaki *et al.*, 2004). TAUT ノックアウトマウスを用いた報告では、骨格筋を含む組織のタウリン濃度が著しく低下し、運動能が低下する (Warskulat *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2008). これまで、運動パフォーマンスに及ぼすタウリン投与の効果に関しては、抗酸化作用 (Dawson *et al.*, 2002; Miyazaki *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004), 心機能の増強 (Geiß *et al.*, 1994; Baum *et al.*, 2001), 筋損傷の予防 (Manabe *et al.*, 2003 ; 矢田部ら, 2005)などによる走行時間の延長などが報告されているが、上述のような疲労の原因について検討はなされていない. これ以外にも、タウリン投与による長時間持久性運動時パフォーマンスの増強を上述の疲労の要因で検討した研究はほとんどない.

タウリンは含硫アミノ酸の最終代謝産物で、広義ではアミノ酸と考えられる. アミノ酸を投与することによって糖代謝に影響を及ぼし疲労を軽減させさらにパフォーマンス増強するものがある. さらにBCAA 投与は、血中アミノ酸比の変化に影響を及ぼしたり、グルタミ

ンへも影響を及ぼす (Bassit *et al.*, 2002)などアミノ酸投与が他のアミノ酸へ影響する報告がある。他方、一過性のタウリン投与が、血漿、心筋、動脈、静脈の組織アミノ酸濃度を変化させた報告もある (Korang *et al.*, 1996)。このように、外因性の慢性タウリン投与は組織中の他のアミノ酸濃度に影響を及ぼす可能性がある。

そこで本研究において、長時間持久性運動時のパフォーマンスにタウリン投与が影響を及ぼす要因として、疲労の原因の一つである長時間持久性運動時の血糖値の低下にタウリン投与がどのように関与するのかについて着目した。含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリンの投与がこの血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立て、三つの課題を検討した。

タウリン投与による運動パフォーマンスに及ぼす影響については、メカニズムを含めてまだまだ議論の余地は大きいことは明白である。本研究によって得られた知見は、運動生理・生化学分野はもちろんであるが、病態で組織タウリン濃度が変化することからも医学分野へも有用な情報を提供することが期待される。



## Ⅱ．文献研究

### 1. タウリンの代謝と生体内分布

タウリン（2-アミノエタンスルホン酸）は、白色・無臭の結晶で、生体内における含硫アミノ酸代謝の最終産物の一つである．タウリンは、タコやイカ、貝などの海産物に多く含まれていて（Huxtable, 1989）、経口的に食物からかなりの量が摂取されている．生体内の生合成は、メチオニン、システインを経てタウリンに至るいくつかの生合成経路があるが、主要経路はシステインからシステインスルフィン酸、ヒポタウリンを経てタウリンに至る経路である（Huxtable, 1989）．

一方、ネコはこのタウリンを合成する酵素を持っていないため、タウリンは必須なアミノ酸と考えられている．幼若ネコをタウリン欠乏食で飼育すると、血漿および網膜のタウリン濃度が低下するとともに網膜組織の変性と網膜電図の異常が起こり、ついには失明する．このような欠乏症はサルの子牛にも認められ、ヒトの子牛においてもタウリンの合成機能が低く、外部から食事などで補う必要がある半必須アミノ酸であると考えられている．子牛期にはタウリンが高濃度に含まれている母乳から主に供給され、この時期の必要量の多くが外因性に供給されている．経口摂取されたタウリンの大半は尿中に排泄され、生体内のタウリン濃度は腎において調節されている（守田, 1996）．

タウリンは生体内においてタンパク質に取り込まれない遊離した状態で存在する．タウリンは血流から供給されるが、多くの組織に広く存在し、通常その他の遊離アミノ酸より高濃度である（Jacobsen and

Smith, 1968). 特に，中枢神経組織や心筋，網膜，骨格筋などの興奮性組織に高濃度に存在する (Huxtable, 1989).

## **2. 筋収縮とタウリン**

### **A. 骨格筋タウリン濃度**

骨格筋 (福井ら, 1986), 横隔膜 (福井ら, 1987)のタウリン濃度は発育の過程で増加し，筋の発達に伴って筋線維タイプによるタウリン含量や動態の差が生ずる．なお，発育過程の速筋線維優位筋と遅筋線維優位筋との間で遊離アミノ酸含量の違いが生ずるのはタウリンのみである (福井ら, 1986). 骨格筋タウリン濃度は筋線維タイプによって異なり，速筋線維よりも遅筋線維において高濃度に存在する．ラットヒラメ筋のタウリン濃度は長趾伸筋の約 2 倍である (Iwata *et al.*, 1986). さらに，ヒトの外側広筋においてタウリン濃度は Type II 線維に比して Type I 線維で高い (Tallon *et al.*, 2007; Blomstrand and Essen-Gustavsson, 2009). しかしながら，持久的鍛錬者においては，その差が認められなかったとの報告 (Essen-Gustavsson and Blomstrand, 2002)もある．

### **B. 脊髄の運動ニューロンに対するタウリンの作用**

倉地ら (1981)は，カエル摘出脊髄において，興奮性伝達物質のひとつである L-glutamate によって生じた前根および後根における脱分極が，タウリンによって著明に抑制されたことを報告した．また，運動ニューロンの興奮性はタウリンによって必ずしも抑制されないが，

興奮伝達物質, glutamate および substance P により引き起こされた反応はタウリンにより, 濃度依存的に抑制された (倉地ら, 1985). 以上のことから, カエル脊髄の活性に対するタウリンの抑制作用は, 興奮性伝達物質により引き起こされる反応の抑制によると示唆した.

### C. 骨格筋収縮に及ぼすタウリンの作用

小西ら (1984)は, カエルの骨格筋においてタウリン処理を施した単一筋に電気刺激を行った結果, 単収縮張力の減少を認めた. これは, タウリンの筋小胞体に対する直接作用ではなく, 細胞膜を介した何らかの制御機構が働いたものと考察している. 一方, Hamilton *et al.* (2006)は, guanodinoethane sulfonate (GES)によりタウリンを枯渇させたマウスの長趾伸筋を用いて, GES処理によってピーク単収縮張力はコントロールと比べ 23%減少したことを示した. 両者の相反する結果は, 種によって異なるのか, 一致した見解が得られていない. さらに, Hamilton *et al.* (2006)は, GES処理で疲労に至る時間が延長したことを報告した. この骨格筋におけるタウリン濃度低下が収縮力を低下させ持久性を高めたことについて, タウリン濃度の低下が刺激ごとの筋小胞体からの $\text{Ca}^{2+}$ 放出を少なくし, その結果として仕事量の減少が疲労に至る時間を延長させたことを示唆している. さらに, タウリン添加によって,  $\text{Ca}^{2+}$ の非存在下ではあるものの, 長趾伸筋の収縮が半分になる時間が延長したことを報告した (福井ら, 1987). 一方, ヒラメ筋や長趾伸筋と同じ収縮特性をもつ横隔膜において, タウリン添加による収縮力の延長は認められなかったことから, 単にタウリンの有無の他に, 条件も考慮する必要があると思われる.

#### **D. $\text{Ca}^{2+}$ の動態とタウリンの作用**

心筋・骨格筋における筋収縮の興奮収縮連関においては筋小胞体からの $\text{Ca}^{2+}$ 放出・取り込みが関与する．この細胞膜安定かつ筋収縮を支配する機能を有する $\text{Ca}^{2+}$ の動態にタウリン処置が影響を与えるという報告と、与えないという報告がある．

Huxtable *et al.* (1973) はタウリン存在下において、ラットから単離した筋小胞体の $\text{Ca}^{2+}$ 取り込み能が増加し、筋小胞体による $\text{Ca}^{2+}$ 吸収量も増加したことを示した．さらにGaller *et al.* (1990) は、タウリンによる筋小胞体の $\text{Ca}^{2+}$ 再吸収促進により筋収縮時のミオシン－アクチン作用におけるトロポニン－アクチン結合が抑制されたとした (Galler *et al.*, 1990)．またIzumi *et al.* (1977) も、ミクロソームへの $\text{Ca}^{2+}$ 結合がタウリンの容量依存的に抑制されたことを示した．

一方、Entman *et al.* (1977)はイヌの心筋分離小胞体を用いて $\text{Ca}^{2+}$ 遊離速度、 $\text{Ca}^{2+}$ 取り込み、 $\text{Ca}^{2+}$ 結合、ATPase活性のいずれにも影響しなかったと報告し、小西ら (1984)もタウリンを施したカエルの骨格筋に電気刺激を与えると細胞内遊離 $\text{Ca}^{2+}$ は変化しなかったにも関わらず、単収縮張力は抑制されたことから $\text{Ca}^{2+}$ による影響はなかったことを示唆した．

#### **E. 筋収縮および運動による組織タウリンの変化**

ラットの坐骨神経に電気刺激を行った実験において、遅筋線維（ヒラメ筋）では見られないが速筋線維（長趾伸筋，前脛骨筋）においてタウリンの吸収率が増加し、筋線維のタイプの違いによってその濃度変化が異なることを報告したもの (Kim *et al.*, 1986)がある一方で、速

筋と遅筋の両筋線維タイプにおいて電気刺激がタウリン濃度を増加させるという報告もある (Iwata *et al.*, 1986). また骨格筋のタウリン濃度は、除神経や腱切断によっても影響を受ける。坐骨神経切除を行うと、除神経による骨格筋へのタウリン取り込みが増加し、タウリン含量増加が速筋線維優位筋においてみられることが報告されている (金ら, 1984 ; Iwata *et al.*, 1986). さらに、神経が完全な状態で腱切断を行い、筋収縮を障害したとき、筋重量減少を生じるが、総タウリン量の増加は長趾伸筋においても認められない (金ら, 1985). これらのことから、筋へのタウリンの取り込みは神経系の情報や筋活動よりも筋組成に影響されることが示唆される。

ラットを用いた運動負荷実験において、一過性の運動負荷によりラット骨格筋中のタウリン濃度が減少するとの報告がある。Matsuzaki *et al.* (2002)はラットに疲労困憊まで走行させると、長趾伸筋、足底筋そして腓腹筋においてタウリン濃度が減少するが、ヒラメ筋においては有意な変化が認められなかったことから、速筋優位筋にのみタウリンの減少が認められるとした。しかしながら、Yatabe *et al.* は疲労困憊走行後に長趾伸筋、腓腹筋に加え遅筋優位筋であるひらめ筋においてもタウリンの減少を報告している (Yatabe *et al.*, 2003). 一方、ヒトにおいてこの一過性の運動による骨格筋タウリン濃度の減少は認められていない (Essen-Gustavsson and Blomstrand, 2002; Galloway *et al.*, 2008; Blomstrand and Essen-Gustavsson, 2009).

また、ヒトのウルトラトライアスロン (Lehmann *et al.*, 1995)やマラソン (Cuisinier *et al.*, 2001)において、運動前と比べて運動後の血漿タウリン濃度が上昇するとの報告がある。Cuisinier *et al.* (2001)は、マラ

ソン後の血漿タウリン濃度の上昇に加え，尿中タウリン濃度が上昇したことについて，運動により筋肉中から尿中へタウリンが排泄されたためであると推察した．更に筋損傷のマーカーとされるクレアチン・キナーゼ (creatine kinase : CK) と尿中タウリンの変化量に相関を認め，尿中タウリンの上昇が筋損傷を示す簡便なマーカーとなり得る可能性を示唆している．

### 3. エネルギー代謝に及ぼすタウリンの作用

タウリンは，様々な組織において代謝経路へ影響することで器官の機能を促進させることが広く知られている．

#### A. 糖質代謝への影響

糖質は生命活動に必須の物質であり，生体内のほぼすべての臓器が，細胞の直接のエネルギー基質である ATP を糖質から生成する．とくに，脳を含む神経系は，糖質のみを ATP の生成源にしている．糖質は，グリコーゲンという形で生体内に蓄えられている．肝臓は，グリコーゲン貯蔵器官の一つであり，グリコーゲンをグルコースに変換し，血流を介して各臓器に配分する．血液中のグルコース濃度は，血糖値とも呼ばれ，血糖値をあるレベル以上に保つことは生体にとって重要である．しかし，血糖値が過剰に上昇した場合もまた，さまざまな不都合が生じ，糖尿病はその顕著な例である．Harada *et al.* (2004) は 2 型糖尿病ラットを用いて呼吸交換比を検討することで，糖や脂質代謝へのタウリン投与の影響を評価した．16 週齢 2 型糖尿病ラットをタウリン (3% 水溶液) 投与と非投与の 2 群に分け，9 週間後に測定を行った．

その結果、タウリン投与群において TG 合成増加が原因で起こる食後の糖酸化の一部が減少し、高血糖症やインスリン抵抗性を改善し、筋グリコーゲンの増加を示した。タウリン投与は、2 型糖尿病で見られる耐糖能の低下に効果的であるとともに、肥満の原因となる脂質の蓄積防止にも効果的であると示唆している。さらに、この 2 型糖尿病へのタウリンの糖代謝への影響に関して、血糖の低下 (Kaplan *et al.*, 2004), インスリン感受性の改善 (Nandhini *et al.*, 2005)の報告がある。

低・中強度の運動中、筋での糖の需要が高まり血糖の取り込みが高まるものの、肝におけるグリコーゲン分解そして糖新生を行うことで血糖は維持される。しかし長時間に至る運動において、この筋での需要に対して肝での供給が追いつかないと低血糖に陥ることがある。久保田と早乙女 (1974)は、マウスにランニングまたは遊泳をさせると運動後数時間低血糖を示すが、事前に 3 日間タウリンを投与すると強制運動後の血糖降下を抑制したと報告した。このことから、タウリンは運動による疲労からマウスを保護する何らかの効果をもつ可能性があるとし唆した。一方、Nakagawa and Kuriyama (1975)はラットを寒冷暴露すると、ストレス誘発性血糖上昇を認めるが、タウリン投与によりこの血糖上昇を抑制すると報告している。この調節のメカニズムは、おそらく副腎髄質顆粒からのアドレナリン放出の抑制かまたは顆粒の膜の安定性によると示唆している。

持久性トレーニングによって、ミトコンドリアの容量やコハク酸脱水素酵素 (succinate dehydrogenase:SDH)活性の増大により、筋の酸化能力が増大する。一方、スプリントトレーニングによって、CK, 乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase: LDH), ホスホフルクトキナーゼ

(phosphofructkinase: PFK)などの解糖系酵素活性が亢進することが知られている。Takekura *et al.* (1985, 1986)は、タウリンが骨格筋における代謝特性に及ぼす影響を、持久性トレーニングとスプリントトレーニングを行わせたラットにおいて検討した。タウリン経口投与によりラット下肢骨格筋における CK, LDH, PFK などの解糖系酵素活性値は持久性トレーニング、スプリントトレーニング、およびコントロール群において高値傾向を示し、グリコーゲン含有量もトレーニング群においてタウリン投与群が非投与群と比較し高値を示した。しかしながら、持久性トレーニング群におけるタウリン投与は、SDH 活性の有意な低値を示した。このことから、タウリントレーニング時のタウリン投与は、解糖系酵素活性を増大させるが、持久性トレーニングによる酸化能力を抑制する可能性があると考えられる。

## **B. 脂質代謝への影響**

持久的トレーニングによるパフォーマンスの向上に貢献する要因の一つとして、ミトコンドリアの酸化的リン酸化能の向上に伴う筋中のグリコーゲン分解の抑制および脂質酸化の割合の増大がある。グリコーゲンの枯渇は筋活動の限定要因となりうるため、脂質酸化の割合の増大は疲労に達するのを遅延させる。最近、Rutherford *et al.* (2010)は、ヒトへ一過性に 1.6 gのタウリン投与後の運動中の代謝応答を検討した。約 66%  $\text{VO}_{2\text{max}}$  の自転車漕ぎ運動を 90 分間、行わせたところ、プラセボ群、コントロール群に比べて、タウリン投与群において、脂質酸化がわずかに 84kJではあるが、16%増加したと報告した。しかしながら、引き続き行ったタイムトライアルにはタウリン投与の効果は認め



られなかった．また，低糖高タンパク高脂肪食下のランニング時の代謝に 1 日 6g, 10 日間のタウリン投与が及ぼす影響を検討した研究では，20km 走翌日の血中トリグリセライドがタウリン投与時に減少し，プラセボ投与時に増加したと報告した（小野ら，1980，1981）．また 20km 走直後の血中遊離脂肪酸（free fatty acid : FFA）の増加を抑制するような作用を認めた．これらのことから，タウリン投与は運動時の脂質代謝を生理的に保とうとするタウリンの作用であると示唆している．

肥満は，体脂肪の割合（体脂肪率）が正常域を超えて，ある一定水準以上になった状態をさす．肥満は生活習慣病の極めて重要なリスクファクターである．従来，脂肪細胞は単なるエネルギー貯蔵庫と考えられてきたが，実はその発現物質の 20～30% がホルモン，増殖因子，およびサイトカインといった生理活性物質であり，脂肪細胞はそれらの分泌器官であることが明らかになっている．高脂肪食による肥満マウスにおいては，タウリンを合成する酵素であるシステインデオキシゲナーゼの脂肪組織での発現が低下するのと同時にタウリン濃度が減少していて，タウリン投与が安静時のエネルギー消費を高めることによって高脂肪食誘発性の肥満を防ぐとの報告がある（Tsuboyama *et al.*, 2006）．さらに，糖尿病動物にタウリンを投与すると，脂質酸化を抑制し TG や LDL コレステロールが低下したとの報告もある（You and Chang, 1998）．また，田中ら（1984，1985）は，タウリンの脂肪分解能に及ぼす影響について，ラット副睾丸脂肪組織を用いて *in vitro* の検討をした．タウリン添加により脂肪組織における遊離脂肪酸放出の増加を認め，血液中における遊離脂肪酸はタウリン投与によって減少したことを示した．これらの結果から，タウリンは脂肪組織での脂肪分解

に関して、脂肪酸放出を促進する作用を有するとともに、タウリン投与によって血液中の脂肪酸利用系に対しても促進作用を有すると示唆した。

これらのことから、タウリン投与による脂質代謝に対する影響は、2 型糖尿病、特殊な食事下および *in vitro* において認められ、ヒトの *in vivo* においては、多少の効果が認められているものの、十分に検討されているとは言えない。

### C. アミノ酸代謝への影響

骨格筋を構成しているタンパク質は、おのおの独自の速さで絶えず合成され分解されている（代謝回転）。一過性の運動やトレーニングの実施、あるいは不活動は、この代謝回転率あるいはタンパク質分解速度に影響を与える。その結果、アミノ酸濃度に影響を与える。例えば、骨格筋アミノ酸プールの増加には、1)タンパク質分解の上昇、2)タンパク質合成の低下、3)不要なアミノ酸合成の増加、4)筋への輸送の増加、5)筋からの放出の減少、6)アミノ酸酸化の減少が挙げられる。このアミノ酸濃度に対する一過性運動の変化を検討した研究は数多くある。2 時間の持久性運動によって、タイプ I、タイプ II 線維の両方において、グルタミン酸濃度が減少し、チロシン濃度は上昇を示した (Essen-Gustavsson and Blomstrand, 2002)。また、レジスタンス運動によって、タイプ I、タイプ II 線維の両方において、グルタミン酸濃度が減少した報告がある (Blomstrand and Essen-Gustavsson, 2009)。しかしながら、タウリン投与によるアミノ酸濃度の変化を検討した研究は数少ない。Galloway *et al.* (2008)は、ヒトへの 1 週間のタウリン投与時

に運動を負荷したときのアミノ酸代謝を検討している．タウリン投与によって，2 時間運動時の筋グリコーゲンや筋 ATP 量に影響を及ぼさなかったものの，外側広筋のアミノ酸に影響を及ぼしたことを示した．すなわち，タウリン投与によって，運動前のグリシン・チロシン・システイン濃度が減少し，スレオニン濃度が上昇，運動後のグルタミン・ヒスチジン・スレオニン・アラニン・アルギニン・バリン・イソロイシン・ロイシン濃度が上昇を示し，タウリンは運動時の筋アミノ酸動態に影響するようになると考察している．しかしながら，タウリン投与による，骨格筋アミノ酸濃度への影響のメカニズムについては明らかになっていない．加えて，運動の条件ではないものの，Korang *et al.* (1996)は一過性にラット腹腔にタウリンを投与したときのアミノ酸の変化を検討した．240 分後の血漿濃度はタウリンの上昇に反してアンモニア，アルギニン，オルニチン，スレオニン，チロシンが減少を示した．また，30 分後のタウリン濃度は大幅に上昇し，心筋においては，アラニン・シトルリン・メチオニン濃度が上昇，動脈においては，アンモニア・アルギニン・アスパラギン酸・ヒスチジン・リジン・メチオニン・セリン・バリン濃度が減少，静脈においては，アンモニア・アスパラギン酸・セリン濃度が減少を示した．

各臓器のアミノ酸動態は運動などの影響を受けるのと同様に，タウリン投与によっても影響を受けるようにみえる．しかしながら，タウリン投与による各臓器でのアミノ酸の動態を観察した研究は限定的で，一致した見解は得られていない．

#### 4. タウリンの運動パフォーマンスへの影響

##### A. タウリン投与による運動パフォーマンスへの影響

タウリン投与によって、ラット走行時間の延長の報告 (Yatabe *et al.*, 2003 ; Miyazaki *et al.*, 2004)や走行パフォーマンスの増強 (Dawson *et al.*, 2002)の報告がある。Miyazaki *et al.* (2004)は、ラットに1日体重1kg当たり0, 20, 100, 500 mgのタウリンを2週間投与し、疲労困憊までトレッドミルで走行させた。その結果、疲労困憊までの走行時間は、組織のタウリン濃度維持を伴いながら用量依存的に延長したことを示し、タウリンの効果的な投与量は体重1kg当たり500mgであると示唆した。これらのメカニズムとして、タウリン投与によるlipid hydroperoxide (LPO), 酸化型グルタチオンなどの抑制 (Miyazaki *et al.*, 2004), 脂質過酸化反応のマーカーであるチオバルビツール酸化反応物質 (thiobarbituric acid test : TBARS)の抑制 (Dawson *et al.*, 2002)などによる抗酸化作用によるとしている。同様にZhang *et al.* (2004)も、タウリン投与により、TBARSの減少を認め、 $\dot{V}O_2\text{max}$ , 疲労困憊までの運動時間、最大負荷の増加を報告した。

ラットにタウリンを投与し、トレッドミルでランニング負荷した結果、尿中のクレアチニン、クレアチン、メチルヒスチジンの上昇がコントロール群と比較して抑制されたことを示した (Manabe *et al.*, 2003 ; 矢田部ら, 2005)。このことから、タウリン投与によって、運動負荷によって生じる筋損傷・筋障害への効果があることを示唆している。また Manabe *et al.* (2003)は、コントロール群と比べタウリン投与群において、運動後の乳酸の低値も示し、Imagawa *et al.*もマウスで同

様な結果を示している (Imagwa *et al.*, 2009).

久保田と早乙女 (1974)は、マウスに強制走行および強制遊泳時の持久時間に対してタウリンがどのような効果を有するか検討した。タウリン 3g/kg, 1g/kg 投与群とコントロール群で持久時間の比較を行った結果、強制遊泳、強制走行ともに投与群で遂行時間が延長する傾向を認めた。コントロール群において運動時に血糖が低下したが、投与群では血糖降下を抑制したことから、タウリンが運動時の血糖低下を防止し、持久的効果を示唆した。

ヒトに対する研究において、タウリンの心機能の増強効果が報告されている。Geiß *et al.* (1994)は、タウリン含有ドリンクは運動中の心拍数が低下することを示し、このメカニズムとして Baum and Weiß (2001)は、左心室内径短縮率や1回拍出量の増加を認めた。また、小野ら (1980, 1981)と Watanabe *et al.* (1987)はヒトへのタウリン投与が低糖高タンパク高脂肪食下の運動負荷において、心筋由来の特性が高く心筋障害のマーカーとされるクレアチン・キナーゼ・アイソエンザイム (creatine kinase isoenzyme : CK-MB)の上昇を抑えたことを示した。

一方、ヒトへの1週間のタウリン投与は、運動後の筋グリコーゲンや筋中の ATP, 乳酸, クレアチンリン酸, クレアチニン量などにプラセボとの相違を認めなかった (Galloway *et al.*, 2008)報告もある。しかしながら、タウリン投与は他のアミノ酸濃度動態に影響を及ぼしたことを示し、タウリンは運動時の筋アミノ酸動態に影響するようになると考察している。

## **B. タウリン枯渇による運動への影響**

GES を 4 週間投与したタウリンが枯渇したラットの長趾伸筋において、収縮のための基電流（収縮閾値）がよりマイナスへシフトした (De Luca *et al.*, 1996). 同様に Hamilton *et al.* (2006)は、GES によりタウリンを枯渇させたマウスの長趾伸筋を用いて、筋の収縮性と疲労性を検討した。GES 処理によってピーク単収縮力はコントロールと比べ 23% 減少したことを示し、GES 処理で疲労に至る時間が延長したことを報告した。さらに、TAUT ノックアウトマウスによる検討では、TAUT ノックアウトにより様々な組織タウリン濃度が 75~98% も枯渇し、浸透圧調整不足による走行時間の減少 (Warskulat *et al.*, 2004), 筋重量低下, 低体重, 筋形態的变化, ミトコンドリア崩壊による遊泳時間の減少 (Ito *et al.*, 2008)が報告されている。これらのことから、骨格筋タウリンの維持は運動にとって重要であると推察される。

## **5. アミノ酸投与による運動への影響**

運動時や運動後の疲労軽減や身体機能の増強を狙ったサプリメントは多く存在し、中でもアミノ酸のサプリメントは数多い。

クレアチン投与は高強度の運動パフォーマンスを向上させることやトレーニング中の除脂肪体重を増加させる (Buford *et al.*, 2007). 運動前や運動後のBCAA投与は、運動誘発性の筋損傷を軽減 (Coombes *et al.*, 2000; Shimomura *et al.*, 2006) し、筋の分解を抑制する (Blomstrand *et al.*, 2001; MacLean *et al.*, 1994). 中でもロイシンはそれ自体単独で運動後のタンパク合成を促進 (Anthony *et al.*, 2000; Norton *et al.*, 2006) し、グルタミン投与は長時間疲労困憊運動後の免疫機能を高める (Castell *et al.*, 1998; Castell *et al.* 2001). また、中枢疲労の原因と考え

られる血漿遊離トリプトファン／大中性アミノ酸 (LNAA)比を改善するためにBCAAを投与すると，運動中の主観的運動強度 (RPE)が低下する (Blomstrand *et al.*, 1997). さらに，BCAAはピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体を刺激 (Shimomura *et al.*, 2000)し，肝臓や骨格筋においてグリコーゲン量を増加させる (de Araujo Jr *et al.*, 2006)など糖代謝へ影響する.

BCAA は長時間運動中に骨格筋にて酸化され (Rennie *et al.*, 2006), 他のアミノ酸も長時間運動中に糖新生系によってエネルギーとして利用されるものがある. さらに運動中のグルタミン投与は肝臓のアラニン，グルタミンの取り込みを高め糖の産生を高めたとの報告がある (Iwashita *et al.*, 2005). また，BCAA 投与は長時間運動後の血漿グルタミン濃度の低下を抑制し，末梢血中単核球の機能を回復させたとの報告がある (Reinald *et al.*, 2002).

## 6. 様々な病態に対するタウリンの作用

### A. 肝疾患とタウリン

筋ジストロフィー，肝障害，糖尿病，高血圧などの病態とタウリン代謝との関連については様々な報告がある. 健康人では，体重 1kg 当たり約 1g のタウリンが含まれている (木村，1996). しかし，ヒトにおけるデュシェンヌ型筋ジストロフィー症の骨格筋では障害度の進んだものにおいて骨格筋内タウリン量の減少がみられ，筋内タウリン代謝異常が生じることが報告されている (吉野と茂在，1973).

Durelli *et al.* (1982a, 1982b, 1983)と姜ら (1985)は，デュシェンヌ型

筋ジストロフィー症に対するタウリン経口投与の有効性を報告している。Durelli *et al.* (1982a, 1982b, 1983)は、筋ジストロフィー患者において骨格筋タウリン量の減少を認め、筋ジストロフィー患者へタウリンを6ヶ月間経口投与したところ、血漿タウリン濃度が上昇し、筋緊張の自覚症状および筋電図所見が改善したことを認めた。筋ジストロフィー患者へのタウリン投与は、カリウム誘発性の異常興奮性を減少させ、筋緊張症を有意に改善することを報告している。

肝硬変患者においても筋の病態がみられ、肝硬変患者のおよそ88%が、有痛性筋痙攣に苦しんでいると判断されている (Konikff *et al.*, 1986)。有痛性筋痙攣は筋クランプ (muscle cramp)とも呼ばれ、筋肉が疼痛を伴って不随意に筋痙攣を生じる状態である。一般には「筋肉がつる」といわれ、特に下肢の腓腹筋が痙攣を起こしている状態は「こむら返り」と呼ばれる (安田と寺尾, 1993)。

筋緊張性ジストロフィー症と同様に有痛性筋痙攣がみられる肝硬変患者の骨格筋でもタウリンの減少が報告されている (松崎ら, 1990 ; Matsuzaki *et al.*, 1993 ; Yamamoto *et al.*, 1994)。肝硬変患者において、筋肉のタンパク質異化の上昇により芳香族アミノ酸が筋から放出され、筋内への分岐鎖アミノ酸の取り込みが上昇するといった異常なアミノ酸代謝が筋内で起こり、実験的に障害を誘発させたヒトの肝臓においても、タウリンの枯渇が起こるとの報告もある (中嶋ら, 1980)。

松崎ら (1990, 1993)は、有痛性筋痙攣を有する肝硬変患者に対し、タウリン 3g/日を経口投与したところ、7日目より筋痙攣が完全に消失したことを報告した。さらに、筋痙攣を伴う慢性肝障害患者12例に同様のタウリン経口投与を行ったところ、8例で筋痙攣の消失と4例



で症状の軽減を認めた。タウリンは副作用がほとんどなく、黄疸の改善にも有用なことから、肝機能障害、筋痙攣に対して有効な治療薬であると報告している。この有痛性筋痙攣に対するタウリンの作用機序として、松崎らは、骨格筋内タウリン減少による神経結合部の膜興奮性がタウリンを補充することにより抑制され、筋痙攣を改善すると推測している。

## **B. 糖尿病とタウリン**

糖尿病患者においてもタウリンの代謝異常やタウリン投与の有効性の報告があり、高橋と岩本 (1998)は、糖尿病患者の 30%は、過去 1～2 ヶ月間に有痛性筋痙攣を 1 回以上経験していると報告している。そのうち週 1 回以上有痛性筋痙攣が起こる患者は 7%で、その頻度は、年齢が高く、糖尿病罹患期間が長く、血糖コントロールが悪いほど高かった。神経細胞内において、タウリンは浸透圧調整をグルコースの還元物質であるソルビトールやミオイノシトールとともに行っているため、高血糖状態では、神経細胞内ソルビトール濃度上昇に見合ったタウリン濃度の減少が見られるとしている。Franconi *et al.* (1995)は、インスリン依存型糖尿病患者において、血漿中や血小板内タウリン濃度の低値を認め、90 日間のタウリン投与により血漿中および血小板内タウリン濃度が健康なコントロール群の値に到達したことを報告した。

糖尿病動物にタウリンを投与すると、脂質酸化を抑制し TG や LDL コレステロールの低下 (You and Chang, 1998)、血糖の低下 (Kaplan *et al.*, 2004)、インスリン感受性の改善 (Harada *et al.*, 2004 ; Nandhini *et al.*, 2005)の報告がある。また、糖尿病の遺伝的因子を有する過体重の

ヒトを対象にした研究において有効性を見出せなかった報告 (Brons *et al.*, 2004)がある一方, タウリン投与は TG や体重を減少させたという報告 (Zhang *et al.*, 2004b)もある.

### C. 高血圧とタウリン

タウリンの抗高血圧作用についても様々な報告がある. 脳卒中易発性症高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats stroke-prone: SHRSP)では肝臓のタウリン濃度が正常なラットと比べて50%も低値であり, 高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats: SHR)においても低い傾向を示した (Nara *et al.*, 1978). また, これらを3%タウリン水溶液で飼育すると組織のタウリン濃度の上昇を認めるとともに, 高血圧の発症をわずかながら抑制することを認め, 尾崎ら (1980), 丹羽ら (1981)も血圧低下以外にも心拍数の減少, 脳卒中発生率の著明な減少, 脂質代謝改善を報告している. しかし正常なラットにはタウリンの血圧への影響が認められなかったとした (Nara *et al.*, 1978). これらのことから, 高血圧ラットはタウリンの代謝に欠陥があることを示唆している (Nara *et al.*, 1978). Fujita *et al.* (1987)は, 高血圧境界患者にタウリン6gを7日間投与すると, アドレナリンと血圧の低下を認めたことから, タウリン投与によって交感神経副腎の亢進が抑制されると推察している.

## 7. 文献研究からの課題設定

運動時の疲労はパフォーマンスの低下を引き起こす. Newsholme and

Blomstrand (1996)によれば疲労の代謝的要因は 5 つある．それは、1) クレアチンリン酸の枯渇、2)筋中陽イオンの蓄積（代謝性アシドーシス）、3)筋グリコーゲンの枯渇、4)血糖の低下、5)血漿遊離トリプトファン／BCAA 比の上昇である．

これまで、タウリン投与によって、ラット走行時間の延長などによる長時間持久性運動パフォーマンス向上の報告 (Yatabe *et al.*, 2003 ; Miyazaki *et al.*, 2004 ; Dawson *et al.*, 2002 ; Zhang *et al.*, 2004)があるものの、そのメカニズムについては、抗酸化作用によるものであり、上述のような疲労の原因について検討していない．タウリン投与による長時間持久性運動時パフォーマンスの増強を上述の疲労の 5 つの要因で検討した研究はほとんどない．そこで本研究において、長時間持久性運動時のパフォーマンスにタウリン投与が影響を及ぼす要因として、疲労の原因の一つである長時間持久性運動時の血糖値の低下にタウリン投与がどのように関与するのかを検討するために、以下の三つの課題を設定した．

これまでの先行研究の中で唯一、久保田と早乙女 (1974)はマウスを用いてタウリン投与によって長時間運動後の低血糖の抑制を示したが、メカニズムについては言及していない．長時間持久性運動時の血糖値の低下は疲労の一つの原因であり、他方、糖尿病などの糖代謝異常に対して、タウリン投与が血糖値の是正効果を持つことが示されている．したがって、運動が長時間に及ぶことによってもたらされる糖代謝のアンバランスをタウリン投与が抑制する可能性が考えられる．そこで【研究課題 1】では、ヒトにおいても長時間持久性運動時に伴う血糖低下をタウリン投与で抑制するという仮説を立て、代謝内分泌応答を検討した．

タウリンは含硫アミノ酸の一つで、広義ではアミノ酸と考えられる。アミノ酸投与により糖代謝へ影響を及ぼすものや血中アミノ酸比の変化を引き起こすことにより疲労の軽減やさらにパフォーマンス増強の報告がある。また、BCAA の様に他のアミノ酸へ影響を及ぼすアミノ酸もある。一方、一過性のタウリン投与は、血漿、心筋、動脈、静脈の組織アミノ酸濃度を変化させた報告がある (Korang *et al.*, 1996)。このように、外因性のタウリン投与は組織中の他のアミノ酸濃度に影響を及ぼす可能性がある。研究課題 1 の結果から、長時間持久性運動時の血糖低下を抑制することがヒトでも明らかになった。そこで、含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリン投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立てた。

【研究課題 2】では、長時間持久性運動時の代謝に関わる骨格筋と肝臓において、タウリン投与と長時間持久性運動が他のアミノ酸濃度変化に及ぼす影響を検討した。

研究課題 2 の結果からタウリン投与によって骨格筋タウリン濃度の上昇に反して、糖新生系においてピルビン酸の前駆体となるスレオニン・セリン・グリシン濃度が骨格筋特異的に低下した。これら三つのアミノ酸のみでは、筋タンパク合成に用いられることはない。そこで、【研究課題 3】では、これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに血糖調整に及ぼす骨格筋の遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について、網羅的に遺伝子解析を行い検討した。

### Ⅲ. 研究の目的と課題

博士論文では，長時間持久性運動時のパフォーマンスにタウリン投与が影響を及ぼす要因として，疲労の原因の一つである長時間持久性運動時の血糖値の低下にタウリン投与がどのように関与するのかについて着目した．含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリン投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立て，これを検討するために，前章の文献研究に基づき以下の課題を設定した．

#### 【研究課題1】

「長時間運動時の血糖低下に及ぼすタウリン投与の影響」

長時間持久性運動時の血糖低下はパフォーマンスの低下を引き起こす．他方，糖尿病などの糖代謝異常に対して，タウリン投与が是正効果を持つことが示されている．したがって，運動が長時間に及ぶことによってもたらされる糖代謝のアンバランスをタウリン投与が抑制する可能性が考えられる．長時間持久性運動時の血糖低下をタウリン投与によって抑制するとの報告はマウスを用いた一つの報告に限られ十分に検討されているとは言えない．そこで研究課題1では，ヒトにおいても長時間持久性運動時に伴う血糖低下をタウリン投与で抑制するという仮説を検証した．

#### 【研究課題2】

「タウリン投与と長時間持久性運動が骨格筋および肝臓におけるアミノ酸濃度変化に及ぼす影響」

研究課題1の結果から，長時間持久性運動時の血糖低下を抑制することがヒトでも明らかになった．アミノ酸はそれ自体がエネルギー源としても利用され，糖新生の基質にもなる．また，アミノ酸の投与は運動中のグリコーゲン節約や他のアミノ酸濃度へ影響するとの報告も

ある．そこで，タウリン投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立てた．研究課題 2 では，長時間持久性運動時の代謝に関わる骨格筋と肝臓において，タウリン投与と長時間持久性運動が他のアミノ酸濃度変化に及ぼす影響を検討した．

### 【研究課題 3】

「アミノ酸代謝ならびに血糖調節に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響」

研究課題 2 の結果からタウリン投与によって骨格筋タウリン濃度の上昇に反して，糖新生系においてピルビン酸の前駆体となるスレオニン・セリン・グリシン濃度が骨格筋特異的に低下した．これら三つのアミノ酸のみでは，筋タンパク合成に用いられることはない．そこで，研究課題 3 では，これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに血糖調節に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について，網羅的に遺伝子解析を行い検討した．

本博士論文では，上記に挙げる研究課題を検討し，それぞれの結果およびこれまでの先行研究から導かれた長時間持久性運動時のパフォーマンスに及ぼすタウリン投与の影響を考察した．

## Ⅳ. 長時間運動時の血糖低下に及ぼすタウリン投与の影響 (研究課題 1)

### 1. 目的

脳における平常時の唯一のエネルギー源はグルコースである．血糖は健常者ではかなり正確にコントロールされていて，低・中程度の運動においてはほとんど変化しない．運動によって筋での糖の需要が高まり，血液中からの糖の取り込みが高まるものの，運動中はこの血糖を維持するために，肝においてグリコーゲンを分解し，さらに糖新生を行う．この運動による筋における糖利用と肝からの糖動員のバランスが保たれているため血糖は一定に保たれる．しかし長時間に至る運動において，この筋での需要に対して肝による供給が追い付かないと低血糖に陥り，脳組織における糖消費つまりエネルギー消費量が低下することで，正常な脳機能を維持することが困難になる場合があり，運動時の血糖値の低下は疲労の一つの原因である (Newsholme and Blomstrand, 1996).

中程度の運動における運動前，運動中の糖質の摂取は血糖の低下を防ぎ，筋グリコーゲンの減少を遅らせることによって疲労を遅延させることができ，持久性パフォーマンスを改善する．糖質の他にアミノ酸の投与が運動中の糖代謝に影響を及ぼす報告もある．BCAA の投与はピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体を低下させることで，運動中の筋グリコーゲンを節約する (Shimomura *et al.*, 2000., de Araujo *et al.*, 2006). また，糖新生の基質であるグルタミンの投与は運動中の肝における糖新生を高める (Iwashita *et al.*, 2005).

他方，糖尿病などの糖代謝異常に対して，タウリン投与がインスリ

ン感受性の改善 (Harada *et al.*, 2004 ; Nandhini *et al.*, 2005)などによる高血糖を抑制 (Kaplan *et al.*, 2004)させるなど、血糖の是正効果を持つことが示されている。したがって、運動が長時間に及ぶことによってもたらされる糖代謝のアンバランスをタウリン投与が抑制する可能性が考えられる。長時間持久性運動時の血糖低下をタウリン投与によって抑制するとの報告はマウスを用いた一つの報告に限られ十分に検討されているとは言えない。そこで研究課題 1 では、ヒトにおいても長時間持久性運動時に伴う血糖低下をタウリン投与で抑制できるという仮説を検証した。

## 2. 方法

### A. 被検者

被検者は、日常的に持久性トレーニングを行っていない健康な男性 16名とした。後述のオールアウトテストに先立ち、体重、体脂肪率ならびに身長を測定した。体重ならびに体脂肪率はインピーダンス体組成計 (BC-600, TANITA社製) を使用した。被検者の身体的特性は Table 1 に示す通りである。本実験前日は午後 9 時までに食事を摂取させるとともにアルコールおよびカフェインの摂取を禁じ、当日実験終了まで水以外の飲食物の摂取を禁止した。また、実験中は自由に水を摂取することを許可した。すべての被検者に研究の目的・方法、そして途中で辞退できることを説明した上で、文書による実験参加の同意を得た。なお、本研究は筑波大学における「筑波大学大学院人間総合科学研究科研究倫理委員会」の承認を得て実施した。



Table 1. Characteristics of the subjects

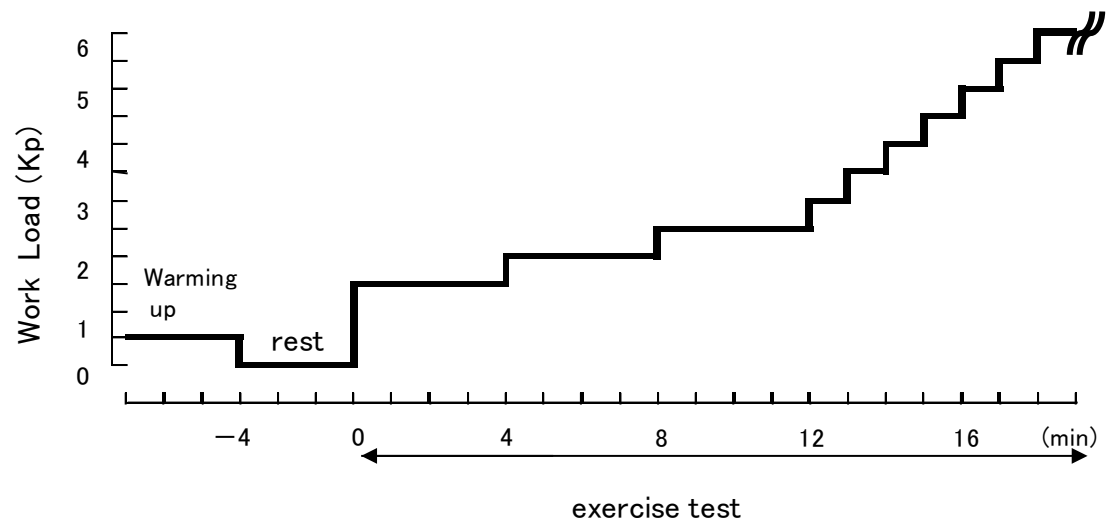
Subjects	Age yr	Height cm	Weight kg	%fat %	VO <sub>2</sub> max ml·min <sup>-1</sup>	VO <sub>2</sub> max ml·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup>
A	19	168.5	53.9	9.1	2974	55.2
B	24	165.5	49.8	10.3	2316	46.5
C	20	169.3	52.1	9.4	3213	61.7
D	20	168.2	50.1	8.8	3199	63.9
F	20	167.0	59.3	15.8	3288	55.4
G	21	176.2	55.8	11.0	3238	57.9
H	20	166.2	60.3	14.2	3205	53.1
I	20	167.2	55.7	14.4	3021	54.2
J	19	170.4	67.5	21.2	2795	41.1
K	19	171.3	59.3	13.8	3493	59.2
L	19	174.6	58.5	13.9	3068	52.0
M	21	172.4	59.9	12.2	3069	51.2
N	20	180.3	75.1	20.9	3267	43.5
O	19	179.7	69.3	14.6	4082	58.9
P	18	166.7	60.8	15.7	3618	59.5
Q	21	167.6	59.4	12.1	3557	59.9
Average	20.0	170.7	59.2	13.6	3212.7	54.6
SD	1.4	4.7	6.8	3.7	386.5	6.5

Values are mean  $\pm$  SD.

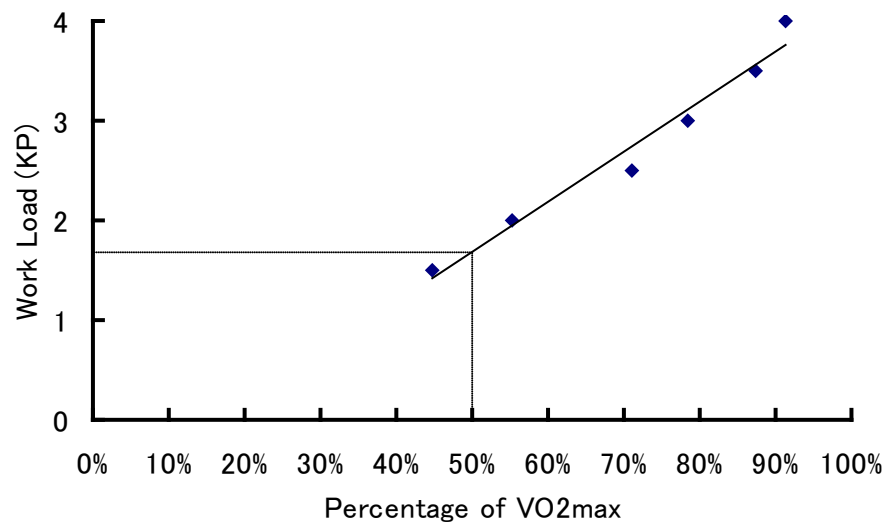
## B. オールアウトテスト

本実験に先立って、被検者の最大酸素摂取量 ( $\dot{V}O_{2max}$ ) を規定するために、本実験の 10 日以上前にオールアウトテストを行った。被検者が実験室に入室してから実験プロトコルの説明を行い、各自で体操を行わせた後に体重を測定した。自転車エルゴメーター (818, Monark 社製) を使用して 1kp の負荷で 3 分間ウォーミングアップを行わせた。続いて呼気採取用のマスクを装着し、自転車エルゴメーター上で 3 分間安静状態を維持した後、電子メトロノーム (DM-17, セイコーエスヤード社製) の音 (60beats/min) に合わせて毎分 60 回転で運動を行わせた。テストプロトコルは山地 (2001) の方法を参考に初期負荷は 1.5kp から開始し、4 分ごとに 0.5kp ずつ段階的に負荷を上げ、3 段階目以降から 1 分ごとに 0.5kp ずつ漸増させて疲労困憊に至るまで運動を継続させた (Figure 1)。Borg (1970) によって作られた 15 段階 (6-20) の主観的運動強度 (Rating of perceived exertion : RPE) を運動中 1 分ごとに調査し、心拍数の記録も行った。

オールアウトの基準は、山地 (2001) の方法にならない、酸素摂取量のプラトー現象の発現、年齢から推定される HRmax ( $220 - \text{年齢}$ ) にほぼ達していること ( $\pm 10$  拍/分)、呼吸商 (Respiration Quotient : RQ)  $> 1.0 \sim 1.5$  であること、RPE が 19 あるいは 20 であることという 4 条件の内、2 条件以上を満たすこととし、そのときの酸素摂取量を  $\dot{V}O_{2max}$  と規定した。得られた  $\dot{V}O_{2max}$  から本実験で用いる  $50\% \dot{V}O_{2max}$  時の負荷を算出した。Figure 2 に典型的な例として被検者 C のデータを示す。



**Figure 1.** Maximal exercise test protocol.



**Figure 2.** Typical sample of calculation of relative work load.

The work load in 50 % VO<sub>2max</sub> in 1.7 kp in subject C.  $y=5.0385x-08473$

### C. タウリン投与

投与したタウリンには、大正製薬株式会社製の“タウリン散「大正」”を用いた。実験 7 日前から前日まで、1 日 6g (2 g × 3 回) を経口摂取させた。すべての被検者に対してタウリン投与 (Taurine-supplemented) と非投与 (Non-supplemented) の 2 条件の実験を実施した。非投与条件においては薬剤を渡さず、投与条件においては、プラセボ効果を排除するため、タウリンを投与する際に薬剤がタウリンかどうかを告知せずに被検者に手渡した。

### D. 実験プロトコル

すべての被検者に対してタウリン投与と非投与の 2 条件の実験を実施した。16 名の被検者に対して二つの条件が同一の順序で行われないように、タウリン投与を先に実施する群と非投与を先に実施する群に被検者を 8 名ずつ乱数表によって無作為に振り分けた。各実験を実施するにあたり、タウリン投与を先に実施した被検者は 10 日間以上、非投与を先に実施した被検者は 7 日間以上の間隔をおくように次の実験日程を計画した。実験当日に前夜からの食事、起床後の飲料を調査した。またタウリン投与条件においては、薬剤の 1 週間の摂取状況を確認した。両条件において  $50\% \dot{V}O_{2\max}$  の強度で自転車エルゴメーター (818, Monark 社製) を用い、2 時間の自転車漕ぎ運動を負荷した (Figure 3, 4)。自転車漕ぎ運動は電子メトロノーム (DM-17, セイコースヤード社製) の音 (60beats/min) に合わせて毎分 60 回転で行わせた。なお運動に先立ち 10 分間のウォーミングアップを行わせた。ウォーミングアップとして 0.3kp の負荷から始め、各被検者の  $50\% \dot{V}O_{2\max}$  に相当する負荷から 0.3kp を減じ、それを 4 で除した負荷を 2 分 30 秒

ごとに加え漸増させた．本運動開始 20 分後，35 分後，50 分後，65 分後，80 分後，95 分後，110 分後にいったんマスクをはずして水を任意に摂取させた．

## **E. 測定項目および測定方法**

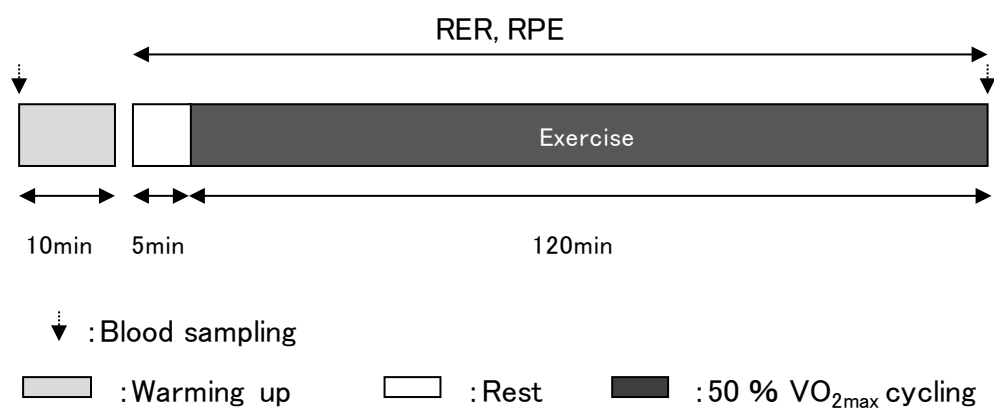
### **(1) ガス分析**

ガス分析には代謝計測定器（Oxycon Alpha, JAEGGER mijnhardt社製）を使用した．ガス較正は，付属のガスボンベ内の既知濃度ガス（5% CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> バランス）を使用して自動プログラムにて行い，ボリューム較正は付属の 3L 較正ポンプを用いて行った．breath by breath で得られたデータをオールアウトテストでは 5 秒間隔で，本実験では 30 秒間隔で出力した．オールアウトテストにおいては，得られた酸素摂取量の最大値を各被検者の最大値とした．また本実験において，出力して得られた呼吸交換比（Respiratory Exchange Ratio : RER）のデータを安静時（0 分）は運動開始までの直前 2 分 30 秒間，運動開始 15 分後，30 分後，45 分後，60 分後，75 分後，90 分後，105 分後では前後それぞれ 2 分 30 秒間のトータル 5 分間，120 分後においては運動終了直前 2 分 30 秒間の平均をデータとして用いた．

### **(2) 生化学的測定項目**

ウォーミングアップの前，そして運動直後に血液サンプルを肘静脈から採取した．

カテコールアミン，グルカゴン測定のため，EDTA-2Na 入り真空採血管に血液を採取し直ちに転倒混和後，速やかに冷却遠心分離（4 °C，



**Figure 3.** Protocol of experiment.



**Figure 4.** Experimental scenery.



3000rpm, 15 分間) を行った。分離した血漿成分は別容器へ移し替え、測定まで凍結保存した。また遊離脂肪酸、インスリン測定のため、シリコン入り真空採血管に血液を採取し直ちに転倒混和し、室温で 30 分間放置した後に遠心分離 (18 °C, 3000rpm, 15 分間) を行った。得られた血清成分は別容器に移し、測定まで凍結保存した。いずれの測定も株式会社エスアールエルに委託した。

アミノ酸測定のため、ヘパリンナトリウム入り真空採血管に採血し直ちに転倒混和後、速やかに冷却遠心分離 (4 °C, 3000rpm, 15 分間) を行った。その際上澄み 1mL と 3% スルホサリチル酸溶液 1mL をボルテックスで振とうし、冷蔵庫で 1 時間放置した。その後、遠心分離器でタンパク質を分離させ (4 °C, 3000rpm, 15 分間)、上澄み液を 0.45  $\mu$  m のフィルタでろ過し、測定まで冷凍保存した。測定は筑波大学研究基盤総合センター分析部門に委託した。

さらに血液サンプルの一部を血中乳酸および血糖の測定に供し、それぞれの測定には簡易血中乳酸測定器 (ラクテート・プロ, アークレイ社) と小型血糖測定器 (グルコカード  $\alpha$ , アークレイ社) を用いた。

### (3) 主観的運動強度 (RPE)

それぞれの実験条件において、運動中 15 分ごとに検者が被検者に対して RPE の表を掲示し、被検者が指差した数字を記録した。

## F. 統計処理

結果はすべて平均値  $\pm$  標準偏差で示した。血液生化学成分各指標の実験条件間、運動前後における平均の差を比較するにあたり、対応の

ある  $t$  検定を行った．呼吸交換比においては経時的変化，実験条件間の比較を二元配置の分散分析を行い，その後 Bonferroni の多重比較検定を行った．すべての統計処理において危険率の有意水準は 5%とした．統計処理には SPSS（SPSS Japan，東京）を用いた．

### 3. 結果

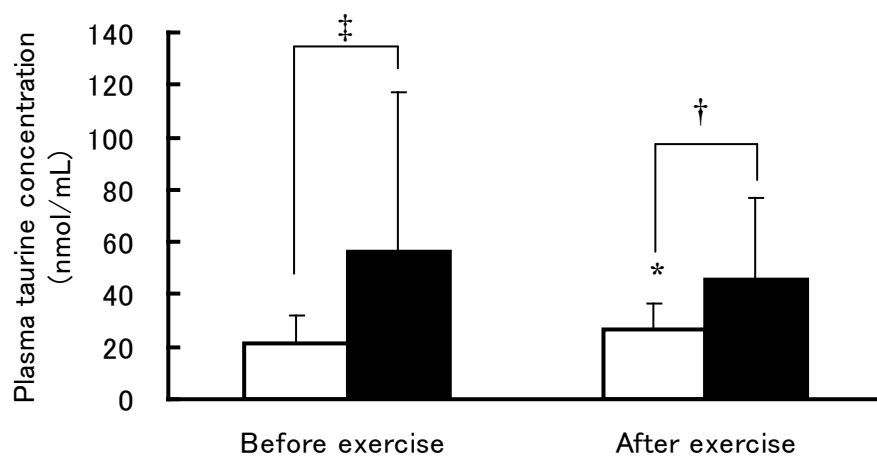
#### A. 生化学的測定項目

##### (1) 血漿タウリン

タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動前後の血漿タウリン濃度の変化を Figure 5 に示した．運動前，運動後の血漿タウリン濃度は，非投与条件に比べタウリン投与条件において高値を示した．また，非投与条件においては，運動前に比して運動後に有意に増加した．

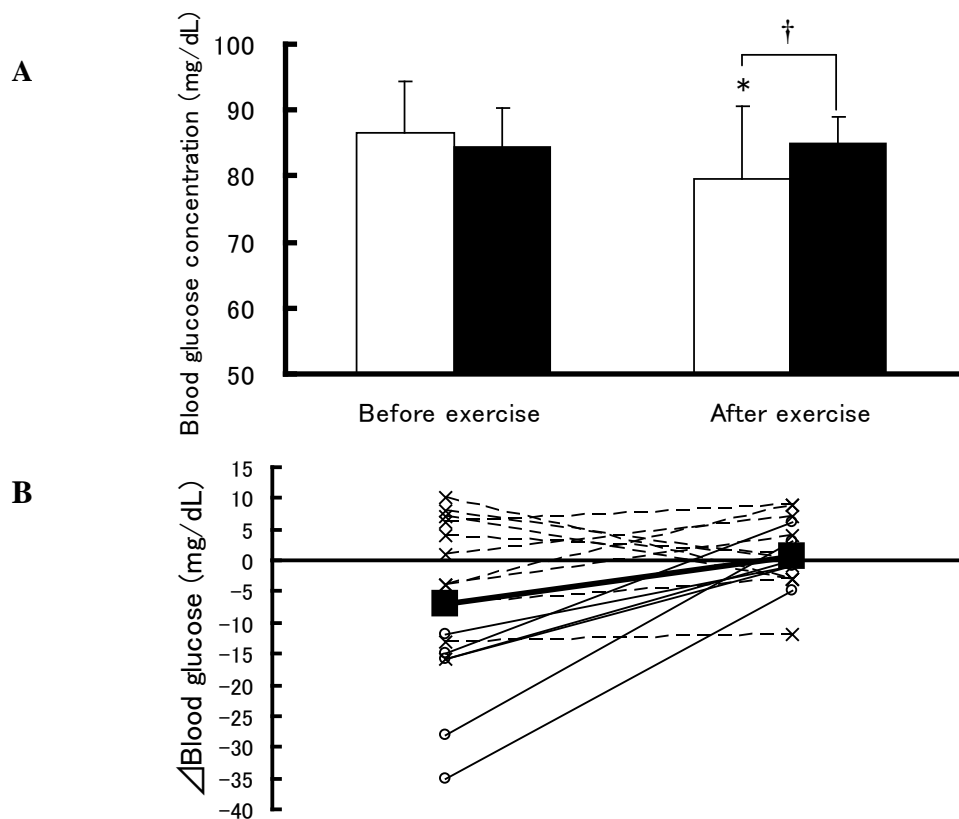
##### (2) 血糖

タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動前後の血糖の変化を Figure 6A に示した．非投与条件には運動によって有意に血糖が低下したが，投与条件においては，血糖は変化を示さなかった．運動後の血糖の値は非投与条件に比して，投与条件において有意に高値を示したが，運動前の値は両条件間に変化を認めなかった．タウリン投与条件と非投与条件における各個人の運動前後の血糖の変化を Figure 6B に示した．非投与条件において 15%以上の血糖低下を示した被験者は，タウリン投与条件においては大幅な改善を示し



**Figure 5.** Changes in plasma taurine concentrations.

Plasma taurine levels were measured before and after cycling for 120 min at 50%  $\dot{V}O_{2max}$  with or without 7 days of taurine supplementation. □, Non-supplemented; ■, Taurine-supplemented. Values are means  $\pm$  SD (n = 16). \*, Significant difference between before and after exercise ( $p < 0.05$ ). †, Significant difference between non-supplemented and taurine-supplemented after exercise ( $p < 0.05$ ). ‡, Significant difference between non-supplemented and taurine-supplemented before exercise ( $p < 0.01$ ; n = 16)



**Figure 6.** Changes in blood glucose concentrations.

A. Blood glucose concentrations were measured before and after cycling for 120 min at 50%  $\dot{V}O_{2max}$  with or without 7 days of taurine supplementation.

□, Non-supplemented; ■, Taurine-supplemented. Values are means  $\pm$  SD.

\*, Significant difference between non-supplemented and taurine-supplemented after exercise ( $p < 0.05$ ;  $n = 16$ ). †, Significant difference between non-supplemented and taurine-supplemented after exercise ( $p < 0.05$ ;  $n = 16$ )

B. Individual difference in changes of blood glucose concentrations. ■, mean change in blood glucose concentration. ○, individuals with  $> 15\%$  decrease in blood glucose concentration after exercise under non-supplemented. ×, individuals with  $< 15\%$  decrease in blood glucose concentration after exercise under without taurine supplementation. ( $n = 16$ ).

た.

### (3) 血漿ノルアドレナリン・アドレナリン

タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動前後の血漿ノルアドレナリン・アドレナリン濃度を Figure 7 に示した. 血漿ノルアドレナリンは, タウリン投与時および非投与条件の両条件において, 運動前に比して運動後にそれぞれ有意に上昇した. 運動後において, 非投与条件に比べタウリン投与条件で有意に低値を示した. 血漿アドレナリンは, タウリン投与条件および非投与条件の両条件において, 運動前に比して運動後にそれぞれ有意に上昇した. 運動前, 運動後の両条件間には差を認めなかった.

### (4) 血清遊離脂肪酸, 血清インスリン, 血中乳酸, 血漿 BCAA, 血漿グルカゴン

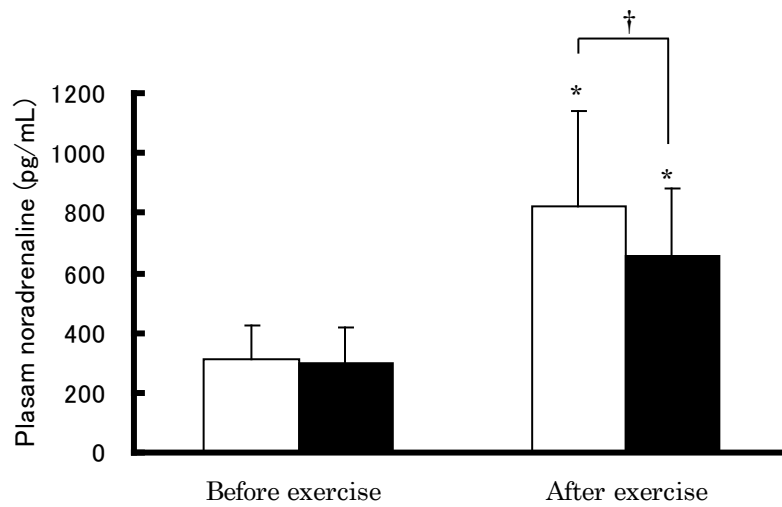
タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動前後の血清遊離脂肪酸, 血清インスリン, 血中乳酸, 血漿 BCAA, 血漿グルカゴン濃度を Table 2 に示した.

血清遊離脂肪酸は, 非投与条件およびタウリン投与条件の両条件において, 運動前に比して運動後にそれぞれ有意な上昇を認めた. 運動前, 運動後の両条件間には差を認めなかった.

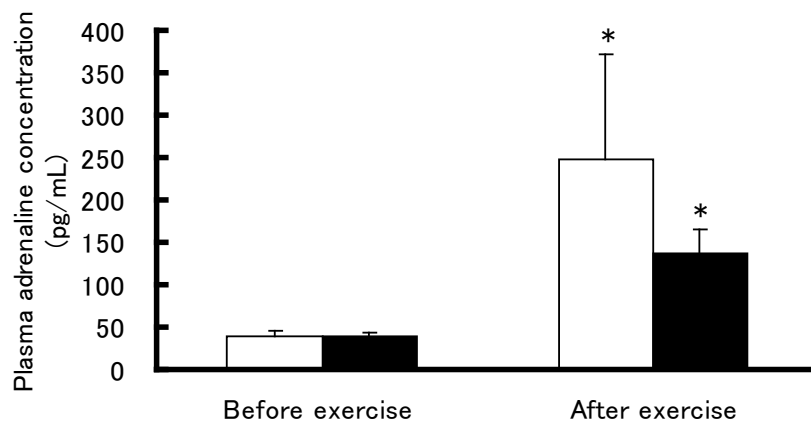
血清インスリン, 血中乳酸, 血漿 BCAA は, 運動前後, 両条件間において有意な差は認められなかった.

血漿グルカゴンは, 非投与条件およびタウリン投与条件の両条件において, 運動前に比して運動後にそれぞれ有意な上昇が認められた. 運動前, 運動後の両条件間には差を認めなかった.

A.



B.



**Figure 7.** Changes in plasma catecholamine concentrations.

Plasma catecholamine concentrations were measured before and after cycling for 120 min at 50%  $\dot{V}O_{2\max}$  with or without 7 days of taurine supplementation. Catecholamine concentrations are shown for A, noradrenalin, B, adrenaline. □, before exercise; ■, after exercise. Values are means  $\pm$  SD. \*, Significant difference between before and after exercise under each condition ( $p < 0.05$ ). †, Significant difference between without and with taurine supplementation after exercise ( $p < 0.05$ ;  $n = 16$ ).

**Table 2.** Serum FFA and insulin, blood lactate acid and plasma BCAA and glucagon levels before and after cycling for 120 min at 50%VO<sub>2</sub>max after 7 days non-supplemented or taurine-supplemented

	n	Non-supplemented		Taurine-supplemented	
		Before exercise	After exercise	Before exercise	After exercise
Serum FFA (mEq/l)	16	0.4±0.2	1.5±0.4*	0.3±0.1	1.3±0.4*
Serum insulin (μIU/ml)	8	6.2±2.2	4.7±4.4	6.3±2.2	6.4±4.0
Blood lactate (mmol/dl)	16	1.4±0.6	1.5±0.6	1.2±0.3	1.3±0.6
Plasma BCAA (ng/ml)	16	170.1±59.5	172.5±50.0	171.8±49.9	164.9±48.2
Plasma glucagon (pg/ml)	8	97.6±35.9	127.4±33.8*	114.6±42.5	145.0±46.3*

Values are means ± SD. \*, Significant difference compared with value before exercise under each condition (p < 0.05). FFA, free fatty acids; BCAA, branched chain amino acid.

## B. 主観的運動強度 (RPE)

タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動中の RPE の推移を Figure 8 に示した. 2 条件間に有意な差は認めなかったが, 運動 120 分後 RPE は, 非投与条件 ( $14.5 \pm 2.3$ ) に比べ, タウリン投与条件 ( $13.6 \pm 2.2$ ) において低値の傾向 ( $p=0.075$ ) を示した.

## C. 呼吸交換比

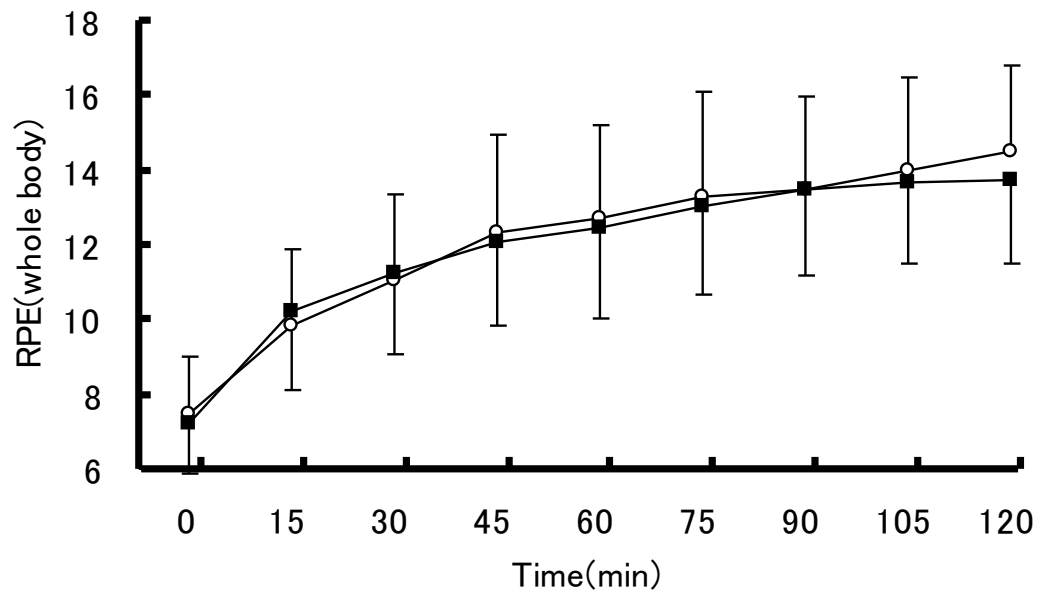
タウリン投与条件と非投与条件における 120 分間の自転車漕ぎ運動中の呼吸交換比の推移を Figure 9A に示した. 両者の推移に有意な差を認めなかったが, 非投与条件に比べタウリン投与条件で高値を示す傾向 ( $p=0.07$ ) が見られた. また 2 条件における 75, 90, 105, 120 分の呼吸交換比曲線下面積を Figure 9B に示した. タウリン投与条件において呼吸交換比曲線下面積は有意に高値を示した.

## 4. 考察

研究課題 1 では, ヒトにおいても長時間持久性運動に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制できるという仮説を検討することを目的とした.

Baum and Weiss (2001) は, タウリン含有ドリンクを用いた実験後に, 鍛錬者より非鍛錬者において効果が大きかったかもしれないと考察していることから, 本研究課題においては, 被検者として非鍛錬者を採用した. また, 自転車漕ぎ運動の強度 ( $50\% \dot{V}O_{2\max}$ ) ならびに時間 (2 時間) は先行研究 (Hamadeh *et al.*, 2005) にならった. さらに, Zhang *et al.* (2004) の先行研究を踏襲し, 投与するタウリン量は, 一日 6g, 投与期間は一週間とした. 姜ら (1985) は, 筋ジストロフィー患者

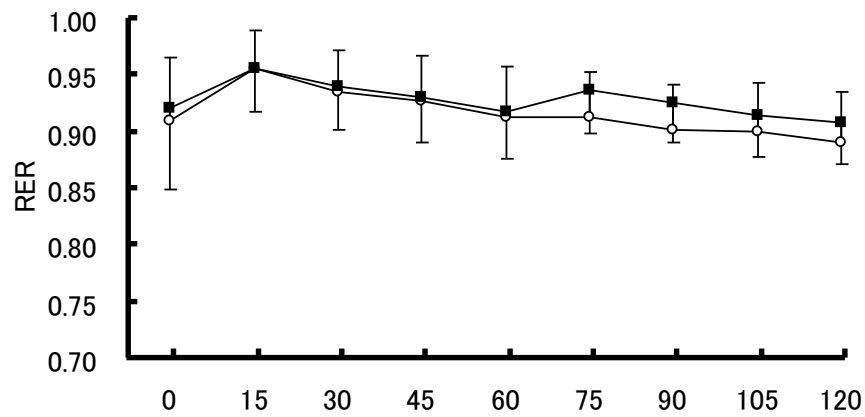




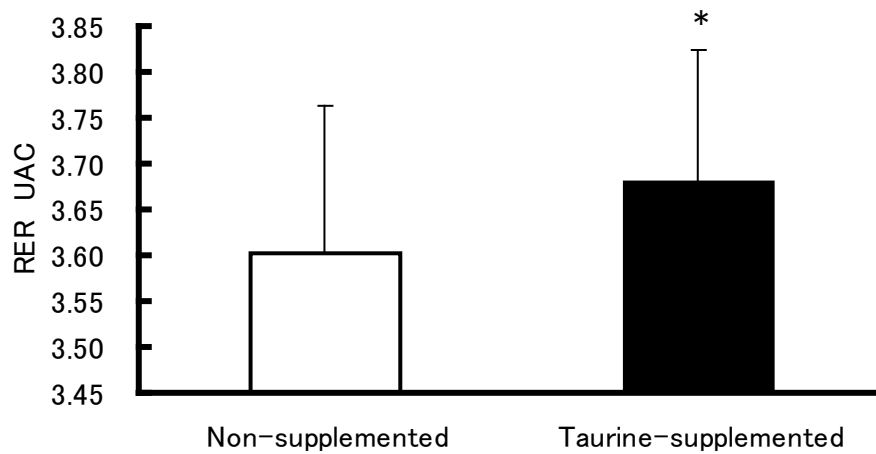
**Figure 8.** Changes in RPE.

RPE were measured while cycling for 120 min at 50%  $\dot{V}O_{2\max}$  after 7 days with or without taurine supplementation. ○ , Non-supplemented; ■ , Taurine-supplemented. RPE, rating of perceived exertion. Values are mean  $\pm$  SD (n = 16).

**A**



**B**



**Figure 9.** Changes in RER.

A. RER were measured while cycling for 120 min at 50%  $\dot{V}O_{2max}$  after 7 days with or without taurine supplementation. ○, Non-supplemented; ■, Taurine-supplemented. Values are mean  $\pm$  SD. (n = 12).

B. Area under the RER curve using 75, 90, 105 and 120 min RER values. RER, respiratory exchange ratio. \*, Significant difference between Non-supplemented and Taurine-supplemented (p < 0.05, n=12).

へのタウリン経口投与によって血中のタウリン濃度は 1.5 倍に上昇し、尿中に排泄されずに体内に残った大部分は、骨格筋、心筋、肝を中心に各組織に取り込まれたものと推察している。本研究課題においても、一週間のタウリン経口投与によって運動前の血漿タウリン濃度は非投与条件に比べタウリン投与条件で約 2.6 倍と有意に上昇した。したがって、十分に組織のタウリン濃度が高まっていたことが推察される。

本研究課題において、ヒトにおいても長時間持久性運動に伴う血糖低下がタウリン投与によって有意に抑制された。久保田と早乙女は、マウスにランニングまたは遊泳を負荷すると運動後に低血糖を示すが、タウリン投与をすると血糖低下が抑制されたと報告している。本研究においても久保田と早乙女の報告と同様の結果が得られたことから、ヒトにおいてもタウリンには長時間運動に伴う血糖低下の抑制効果があることが示唆される。特に非投与条件で 15% 以上の血糖低下を示した 5 人の被検者は、タウリン投与条件で大幅な改善を示した (Figure 6B)。また非投与条件において運動 80 分で疲労困憊に至った被検者はその時点で血糖は 44 mg/dL であったが、タウリン投与条件では運動 120 分まで遂行したにも関わらず、血糖は 58 mg/dL であった。このような運動による血糖低下を示す被検者にとってタウリン投与は、とくに有効である可能性が推察される。また呼吸交換比においては、非投与条件に比べタウリン投与条件において高い傾向が認められ、運動後半である運動開始 75 分から運動終了までの呼吸交換比曲線下面積もタウリン投与条件において有意に高値を示した。さらに血清遊離脂肪酸は、両条件間で有意な差を認めなかったことから、タウリン投与が長時間持久性運動時の血糖低下を抑制した要因は脂質代謝の亢進ではなく糖質の利用が維持されたことが推察される。Rutherford *et al.*

(2010)は、ヒトへ一過性に 1.6 g のタウリン投与後の運動中の代謝応答を検討している。90 分間の自転車漕ぎ運動中の脂質酸化がプラセボ群、コントロール群に比べて、タウリン投与群において、わずか 84kJ ではあるが、16%増加したと報告した。この結果は、本研究の結果と異にするが、本研究の 1 日 6 g で 1 週間投与と Rutherford *et al.* (2010)の 1.6 g の一過性の投与とで結果が異なるのかもしれない。Harada *et al.* (2004)は、2 型糖尿病モデルラットにおいて、タウリン投与によって呼吸交換比に差は認められなかったものの、食後の糖酸化の低下を示した。小野ら (1980,1981)は、タウリン投与が 20km 走行後の血中遊離脂肪酸の増加を抑制する作用があるとし唆している。しかしながら、小野らの報告では低糖高タンパク高脂肪食下におけるタウリン投与と走行負荷であり、低糖高タンパク高脂肪食状態の体調不良が推察され、運動負荷に対して、生理的に保とうとタウリンが働いたと考察している。タウリン添加による副睾丸脂肪細胞組織からの遊離脂肪酸放出の増加が認められるとの報告がある (田中ら, 1984,1985)。これらの報告と本研究の結果は異なるが、2 型糖尿病モデル、特殊食下および *in vitro* とは応答が異なるのかもしれない。

Newsholme and Blomstrand (1996)によれば、運動時の血糖値の低下は疲労の一つの原因である。本研究課題において、運動の最終局面である運動 120 分後において、非投与時に比べタウリン投与時の RPE は低値を示す傾向があった。この要因の一つとして、長時間持久性運動時の血糖低下をタウリンが抑制したことが推察される。

血糖は低・中程度の運動ではほとんど変化しない。運動による筋における糖利用と肝においてグリコーゲン分解そして糖新生による糖動員のバランスが保たれているため血糖は一定に保たれる。これには、

運動によるインスリン分泌の減少，グルカゴン，カテコールアミン分泌の増加が関与している．しかし，本研究において，血清インスリンは変化がなかった．さらに，血漿グルカゴンは運動で上昇を示したものの両条件間における差は認められなかった．運動後の血漿ノルアドレナリンが非投与条件に比べ，タウリン投与条件において有意に低値を示し，血漿アドレナリンも同様の变化をした．非鍛錬者に比べ鍛錬者では，カテコールアミン受容体の感受性が亢進しており，同一量のホルモンが大きな仕事をするため，同一強度における運動中のカテコールアミン分泌が抑制される（堤，1985）．本研究において，タウリン投与によって血糖低下が抑制されたにも関わらず肝からの糖動員を促すカテコールアミンが低値を示したことは，タウリン投与がカテコールアミン受容体の感受性を亢進させ，血糖維持のホメオスタシスを容易にした可能性が推察される．また，Nakagawa and Kuriyama (1975), Patel *et al.* (2006)はそれぞれ拘束寒冷暴露，ピリドキサル誘発性の血糖およびカテコールアミンの上昇をタウリンが抑制することを報告しており，今後はタウリンのストレス緩和作用についても検討が必要であると考えられる．

グリコーゲンを枯渇させ中程度の運動を負荷すると，グリコーゲンを枯渇させない通常の場合の方が運動中の血糖は高値を示す（Segal and Brooks, 1979）．他方，タウリン投与によって骨格筋グリコーゲン増強作用も報告されている（Harada *et al.*, 2004; 竹倉ら，1985; Takekura *et al.*, 1986）．本研究では，筋バイオプシーによる骨格筋グリコーゲン量の測定を行わなかったものの，タウリン投与時に運動後の血糖低下が抑制されたことは，タウリン投与時に骨格筋グリコーゲンが増強された可能性も推察される．

非鍛錬者に比べ鍛錬者においては、血糖のホメオスタシスの改善が報告されており (Brooks and Donovan, 1983), 肝臓からの糖新生を促すグルカゴンの感受性が高まっているとしている (Drouin *et al.*, 1998). 本研究において両条件間で血漿グルカゴンの差はなかったにもかかわらずタウリン投与時に運動誘発性の血糖の低下が抑制されたことは、タウリン投与によるグルカゴン感受性が亢進していた可能性も考えられる.

他方、糖尿病動物にタウリンを投与すると、血糖低下 (Kaplan *et al.*, 2004), インスリン感受性の改善 (Harada *et al.*, 2004, Nandhini *et al.*, 2005) などの報告があり、タウリンが血糖を正常範囲内に調整する働きがある可能性も推察される. これらのことから、タウリン投与によるこれらホルモンの感受性への影響、グリコーゲン貯蔵への影響のみならず、脂質代謝やアミノ酸代謝も含めて総合的に今後の検討が望まれる.

## 5. 小括

研究課題 1 では、長時間持久性運動に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制することをヒトで示した. これはマウスを用いて、走行・遊泳負荷後の血糖低下をタウリンが抑制したとする久保田と早乙女 (1975) を支持するものであるが、久保田と早乙女は血糖以外のパラメーターを示していなかった. 本研究課題の長時間運動後半の呼吸交換比曲線下面積がタウリン投与によって高値を示したことから、長時間運動後半の糖質利用を亢進していたと推察される. また、運動の最終局面である運動 120 分後の RPE は非投与条件に比べタウリン投与条件において低値の傾向を示したことは、長時間持久性運動時のタウリン

投与が血糖低下を抑制し，疲労を緩和する可能性を示唆する．

疲労の原因の 1 つである長時間持久性運動時の血糖低下がタウリン投与によって抑制されたことによって，長時間持久性運動パフォーマンスへ寄与する可能性が推察される．しかしながら，本研究課題 1 ではそのメカニズムについては十分に説明できず，今後さらなる検討が必要である．

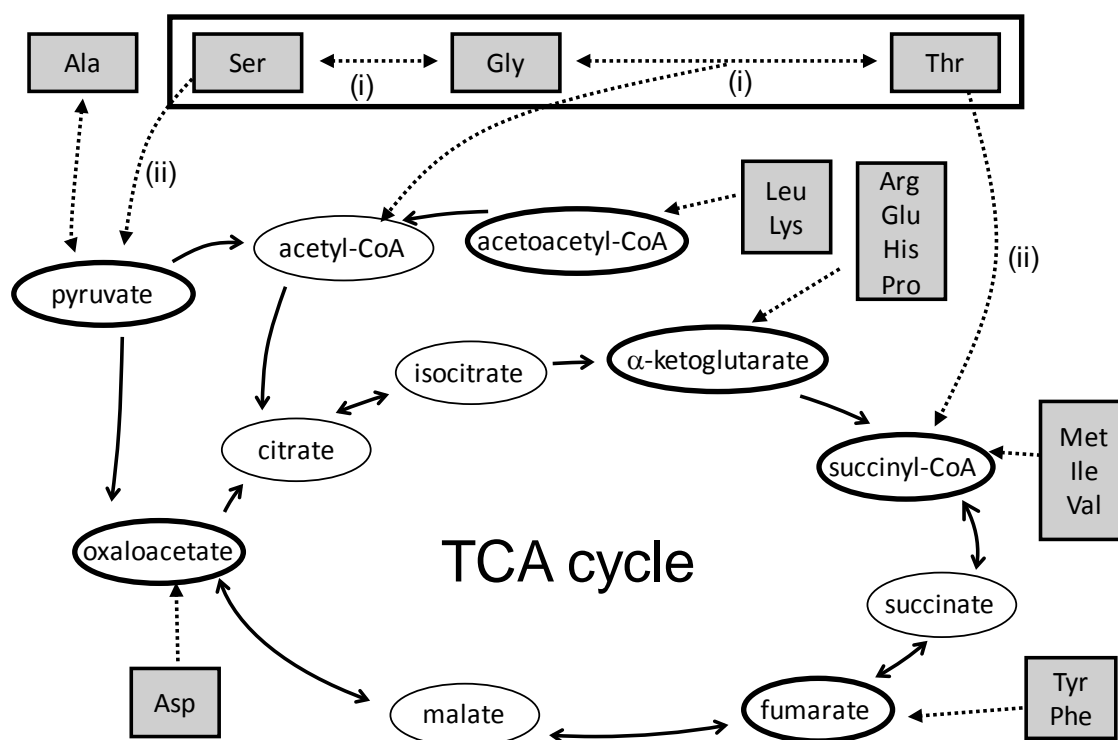
## V. タウリン投与と長時間持久性運動が骨格筋および肝臓におけるアミノ酸濃度変化に及ぼす影響（研究課題 2）

### 1. 目的

運動時のパフォーマンス向上や運動後の疲労軽減を狙ったアミノ酸サプリメントの報告は様々ある．BCAA の運動誘発性筋損傷軽減作用 (Coombes *et al.*, 2000; Norton and Layman, 2006; Shimomura *et al.*, 2006), 骨格筋タンパク質の分解抑制作用 (MacLean *et al.*, 1994; Rohde *et al.*, 1997; Blomstrand and Saltin, 2001), そしてロイシンはそれ自身のみで運動後のタンパク質合成を促進する (Anthony *et al.*, 1999, 2000; Koopman *et al.*, 2005; Norton and Layman, 2006). グルタミンの投与は長時間運動後の免疫機能を高める (Castell and Newsholme, 1998, 2001, 2003). さらに, BCAA はピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体を刺激し運動中のグリコーゲンを節約 (Shimomura *et al.*, 2000)し, 肝臓と骨格筋のグリコーゲン量を高める (de Araujo *et al.*, 2006)など糖代謝へ影響を及ぼす.

運動中の主たるエネルギー基質は糖質と脂質である．しかしながら運動が長時間に及んだり, 飢餓状況下においてはアミノ酸の利用も高まり, BCAA はエネルギー源として骨格筋で酸化される (Rennie *et al.*, 2006). さらにアミノ酸は, 糖新生としても利用され, その糖新生系の一つとしてグルコースアラニン回路がある．骨格筋タンパク質の分解によって生ずるアミノ酸が, ブドウ糖の解糖から得られるピルビン酸を利用してアラニンを生成し, 血流によって肝臓に運ばれ糖新生を行う．そして骨格筋タンパク質の分解のみならず, グルタミン投与は, 肝臓でのアラニン・グルタミンの取り込みを刺激し糖産生を高め





**Scheme** Amino acid catabolism in the gluconeogenic/ketogenic pathway in rat.

Serine, glycine, and threonine are reversibly and enzymatically interconverted via serine hydroxymethyltransferase (i). Serine is catabolized to pyruvate through a deamination reaction by serine/threonine dehydratase (ii), which is absent in human. Threonine is also converted to acetyl-CoA and succinyl-CoA via these enzymes. The amino acids examined in the present study are categorized by the respective compounds in gluconeogenesis to which they are precursors: Ser, Gly, Thr, and Ala; pyruvate, Leu and Lys; acetoacetyl-CoA, Arg, Glu, His, and Pro;  $\alpha$ -ketoglutarate, Met, Ile, and Val; succinyl-CoA, Tyr and Phe; fumarate, Asp; oxaloacetate precursors.

る (Iwashita *et al.*, 2005).

アミノ酸の異化経路は二つあり，ケト原性あるいは糖原生として，ピルビン酸あるいは TCA 回路の中間体（スクシニル Co-A，オキサロ酢酸， $\alpha$ -ケトグルタル酸，フマル酸，アセチル Co-A）として TCA 回路に入る (see Scheme). アミノ酸投与により糖代謝へ影響を及ぼすものや血中アミノ酸比を変化させて疲労を軽減し，さらにパフォーマンスを増強する報告がある．また，BCAA はグルタミンへ影響を及ぼす (Bassit *et al.*, 2002) などアミノ酸の投与は他のアミノ酸へ影響を及ぼす報告もある．他方，一過性のタウリン投与は，血漿，心筋，動脈，静脈の組織アミノ酸濃度を変化させた報告がある (Korang *et al.*, 1996). このように，外因性のタウリン投与は組織中の他のアミノ酸濃度に影響を及ぼす可能性がある．

組織タウリン濃度は TAUT によって高濃度に維持されている (Ramamoorthy *et al.*, 1994). また，骨格筋タウリン濃度は速筋に比べ遅筋において高濃度である (Iwata *et al.*, 1986; Turinsky *et al.*, 1990). このことから，骨格筋の生理学的機能にタウリン濃度の違いが関与する可能性も推察される．さらに，疲労困憊までの走行によって，骨格筋タウリン濃度は低下し，速筋優位筋で顕著であるとの報告がある (Matuszaki *et al.*, 2002) . 加えて，タウリンを投与するとこの運動による骨格筋タウリン濃度減少が抑制されて疲労困憊までの走行時間が延長する (Yatabe *et al.*, 2003; Miyazaki *et al.*, 2004). TAUT ノックアウトマウスを用いた報告では，骨格筋を含む組織のタウリン濃度が著しく低下し，運動能が低下する (Warskulat *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2008). これらのことから，骨格筋タウリン濃度の維持が運動パフォーマンスに重要であると示唆される．しかしながら，これまでの先行研究では，

異なる骨格筋においてタウリン濃度の変化を検討しており，疲労困憊までの走運動時に同一骨格筋内で異なる筋線維タイプ間でのタウリン濃度変化の相違やタウリン投与の影響をみた研究は見当たらない．

研究課題 1 の結果から，長時間持久性運動時の血糖低下をタウリン投与によって抑制することがヒトでも明らかになった．そこで，この血糖調節系の一つとして含硫アミノ酸の最終代謝産物であるタウリン (Hosokawa *et al.*, 1990) 投与が運動パフォーマンスを向上させる一つの要因として，骨格筋や肝臓におけるアミノ酸濃度変化に影響すると仮説を立てた．

まず，研究課題 2-1 では，ラットを用いて長時間持久性運動のパフォーマンスを疲労困憊までの走行時間とし，タウリン投与，非投与で検討した．そして，タウリン投与，疲労困憊までの走行による骨格筋タウリン濃度の変化を同一骨格筋内における筋線維タイプの異なる部位で検討した．次に，研究課題 2-2 では，長時間持久性運動時の代謝に関わる骨格筋と肝臓において，タウリン投与と長時間持久性運動が他のアミノ酸濃度変化に及ぼす影響を検討した．2 週間のタウリン投与によって，同一骨格筋内の異なる筋線維タイプの二つの部位において，アミノ酸を糖原性/ケト原性アミノ酸で分類した場合に糖原性アミノ酸のピルビン酸の前駆体である，スレオニン，セリン，グリシンが減少した．それゆえ，さらにタウリン投与期間を 1 週間延長し，運動群も追加し，ピルビン酸の前駆体に属するこれら三つのアミノ酸とアラニンの骨格筋，肝臓，血漿中における濃度変化に焦点を絞り検討した．

## 2-1. 方法(研究課題2-1)

### A. 被験動物および飼育条件

研究課題 2 - 1 は，筑波大学動物実験指針に基づき，動物実験倫理委員会の承認を得て実施した．

被験動物として，8 週齢のFischer344系雄性ラット27匹（日本SLC株式会社，静岡）を用いた．飼育環境は室内温度20～26 °C，湿度40～60 %，8:00～20:00を明期とした明暗サイクルを維持した．1 週間の予備飼育中は1 ケージ3 匹で飼育し，投与期間中は個別飼育とした．毎朝 8 時に体重を測定すると共に，摂水量および摂餌量を前日の重量と比較し測定した．飼料には動物用固形飼料(MF，オリエンタル酵母，東京)を使用し，自由摂取とした．飲料水には，予備飼育中は水道水，投与期間中は蒸留水を用いた．

### B. 群分け

タウリン投与群と非投与に，さらにそれぞれの群を運動群と安静群に無作為に分けた．すなわち，タウリン投与運動群 (3wTau/Exe, n=7)，非投与運動群 (3wCon/Exe, n=6)，タウリン投与安静 (3wTau/Sed, n=7)，そして非投与安静群 (3wCon/Sed, n=7)とした．

### C. タウリン投与

タウリン（タウリン散「大正」，大正製薬，東京）を蒸留水に溶かし，3 %タウリン水溶液を作成した．タウリン投与群には，タウリン水溶液を，非投与群には蒸留水を給水ボトルに入れ，自由摂取とした．タウリン投与量は，1 日の摂取量から算出した．

## **D. 走運動実験**

### **i) 走行学習**

走運動実験には、小動物用トレッドミル（FVRO.4E9S-6，富士医科産業，千葉）を用いた．トレッドミル走行に慣れさせるために，走運動実験前日の1週間前から計5回の走行学習を施した．走行学習は，すべて 8:00~12:00 に行った（Table 3）．

### **ii) 走運動負荷**

運動群において，投与期間後に一夜絶食をさせ，翌朝 8:00~12:00 に走運動を負荷した．走運動には走行学習時と同じ小動物用トレッドミルを用いた．ウォーミングアップとして，18.9 m/min で5分間，その後 21.7 m/min の一定速度で疲労困憊に至るまで走運動を負荷した．疲労困憊は，「ラットがトレッドミル後方に装備されている電気刺激を与えても走行持続が不可能でかつ，仰臥位にしてもラット自身で起き上がれない状態」と定義した（Dohm *et al.*, 1980, Miyazaki *et al.*, 2004）．また，この判定はタウリン投与群と非投与群について認識をもたない者に託した（Yatabe *et al.*, 2003; Miyazaki *et al.*, 2004）．

## **E. 組織の採取**

運動群においては運動負荷終了直後に，また安静群においては，ペントバルビタールナトリウム 50mg/kg/BW を腹腔に投与し，麻酔下で頸椎脱臼を施し屠殺した．腓腹筋を採取し，液体窒素にて速やかに凍結させた．その際，腓腹筋は内側頭を白色部と赤色部に分けた．採取した組織は分析まで，-20 °C で冷凍保存した．

**Table 3.** Learn to run protocol

Time	Velocity (m/min)	Duration (min)
1	rest	10
	6.5	10
	13.0	10
2	rest	5
	6.5	10
	13.0	10
	15.5	10
3	rest	5
	13.0	10
	15.5	10
	22.5	10
4	rest	5
	15.5	10
	22.5	10
	25.0	10
5	rest	5
	15.5	10
	22.5	10
	25.0	10

## **F. タウリンおよび血糖分析**

組織タウリン濃度分析として，採取した組織に対して 20 倍量の 5 % TCA (trichloroacetic acid)を添加し，ホモジナズした (Homogenizer T25 Basic Ultra Turrux; Ika Japan, 奈良)．ホモジナイズしたサンプルを遠心分離 (4 °C, 6,200g, 30 分間) し除タンパクを行った．遠心分離後，上澄みを 4 倍量のジエチルエーテルで 4 回抽出しサンプルを得た． (Yatabe *et al.*, 2003; Miyazaki *et al.*, 2004) ．血漿タウリン分析として，採取した血漿に 3 %スルホサリチル酸を加え遠心分離 (4°C, 800g, 15 分間) し，0.45  $\mu$ m フィルタでろ過しサンプルを得た (Cuisinier *et al.*, 2002) ．それぞれサンプル中のタウリンを HPLC (high performance liquid chromatography) 法にて測定した．運動群においては，血糖測定のために，運動前後に尾静脈採血により血液を採取した．血糖は簡易測定機 (OneTouch Ultra; LifeScan Japan, 東京) を用いた．

## **G. 統計処理**

結果はすべて平均値 $\pm$ 標準偏差で示した．2 群間の平均の差を比較するにあたり，対応のない *t* 検定を行った．2 要因の差の分析には二元配置の分散分析を行い，その後 Bonferroni の多重比較検定を行った．すべての統計処理において危険率の有意水準は 5 %とした．統計処理には SPSS (SPSS Japan, 東京) を用いた．

## **2-2. 方法(研究課題2-2)**

### **A. 被験動物および飼育条件**

研究課題 2 - 2 は，筑波大学動物実験指針に基づき，動物実験倫理委員会の承認を得て実施した．

被験動物として，8 週齢のFischer344系雄性ラット42匹を用いた．飼育環境および飼育条件は研究課題 2 - 1 と同様に行った．

## **B. 群分け**

タウリン投与群 22 匹と非投与群 20 匹に無作為に分けた．2 週間投与後，すなわちタウリン投与 (2wTau, n=8)，非投与 (2wCon, n=7) とし，一夜絶食後に運動負荷をせずに屠殺しサンプルを得た．その後 1 週間の投与を延長し，3 週間投与においては，さらにそれぞれの群を運動群と安静群に無作為に分けた．すなわち，タウリン投与運動群 (3wTau/Exe, n=7)，非投与運動群 (3wCon/Exe, n=6)，タウリン投与安静群 (3wTau/Sed, n=7)，そして非投与安静群 (3wCon/Sed, n=7)とした．

## **C. タウリン投与**

投与方法は研究課題 2 - 1 と同様に行った．

## **D. 走運動実験**

走運動実験は研究課題 2 - 1 と同様に行った．

## **E. 組織の採取**

運動群においては運動負荷終了直後に，また安静群においては，ペントバルビタールナトリウム 50mg/kg/BW を腹腔に投与し，麻酔下で



頸椎脱臼を施し屠殺した。2週間投与においては腓腹筋，3週間投与においては，腓腹筋，足底筋そして肝臓を採取し，液体窒素にて速やかに凍結させた。その際，腓腹筋は内側頭を白色部と赤色部に分けた。3週間投与において，左心室から約 5～6 mL の血液を EDTA-2Na 入り遠心管に採取し，直ちに転倒混和後，速やかに冷却遠心分離（4℃，800g，15 分間）を行い，血漿サンプルを得た。採取した組織および血漿は分析まで，-20℃で冷凍保存した。

#### F. アミノ酸分析

組織アミノ酸濃度分析として，採取した組織に対して 20 倍量の 5 % TCA (trichloroacetic acid) を添加し，ホモジナズした (Homogenizer T25 Basic Ultra Turrux; Ika Japan, 奈良)。ホモジナイズしたサンプルを遠心分離（4℃，6,200g，30 分間）し除タンパクを行った。遠心分離後，上澄みを 4 倍量のジエチルエーテルで 4 回抽出しサンプルを得た (Yatabe *et al.*, 2003; Miyazaki *et al.*, 2004)。血漿アミノ酸分析として，採取した血漿に 3 % スルホサリチル酸を加え遠心分離（4℃，800g，15 分間）し，0.45  $\mu\text{m}$  フィルタでろ過しサンプルを得た (Cuisinier *et al.* 2002)。それぞれサンプル中の遊離アミノ酸を HPLC (high performance liquid chromatography) 法にて測定した。

#### G. 統計処理

結果はすべて平均値±標準偏差で示した。2群間の平均の差を比較するにあたり，対応のない *t* 検定を行った。2要因の差の分析には二元配置の分散分析を行い，その後 Bonferroni の多重比較検定を行った。

すべての統計処理において危険率の有意水準は 5 % とした．統計処理には SPSS (SPSS Japan, 東京) を用いた．

### **3-1. 結果(研究課題2-1)**

#### **A. 体重変化および摂水量, 摂食量, タウリン投与量**

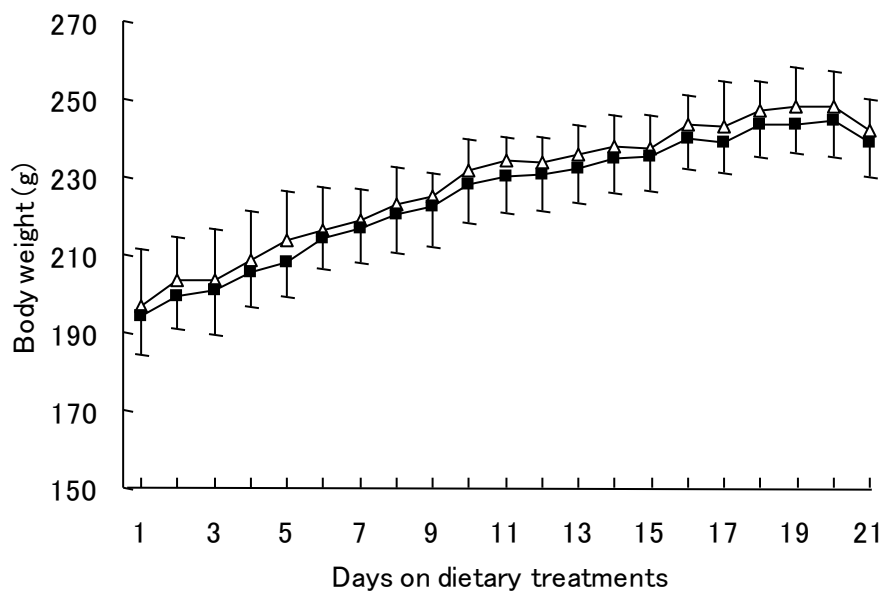
3 週間のタウリン投与期間中の体重変化を Figure 10 に示す．3 週間のタウリン投与によって体重変化には有意な差は認められなかった．また, 3 週間のタウリン投与期間中の摂水量は 3wTau, 3wCon においてそれぞれ  $22.5 \pm 3.1$  mL,  $22.9 \pm 1.9$  mL で, 摂餌量は 3wTau, 3wCon においてそれぞれ  $14.5 \pm 1.2$  g,  $14.1 \pm 1.0$  g であった．タウリン投与期間中の摂水量と摂餌量においてタウリン投与によって有意な差を認めなかった．飲水量から見積もったタウリン投与量は  $3.2 \pm 0.3$  g/kg · BW/day であった．

#### **B. 疲労困憊に至る運動時間**

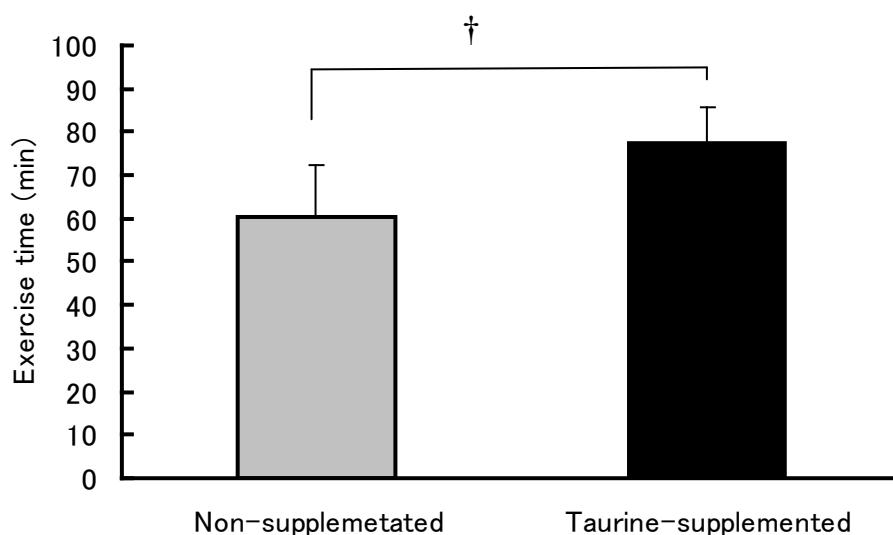
3 週間タウリン投与後の運動群の疲労困憊に至るまでの走行時間を Figure 11 に示した．3 週間のタウリン投与によって疲労困憊に至るまでの走行時間は有意に延長した．

#### **C. タウリン濃度**

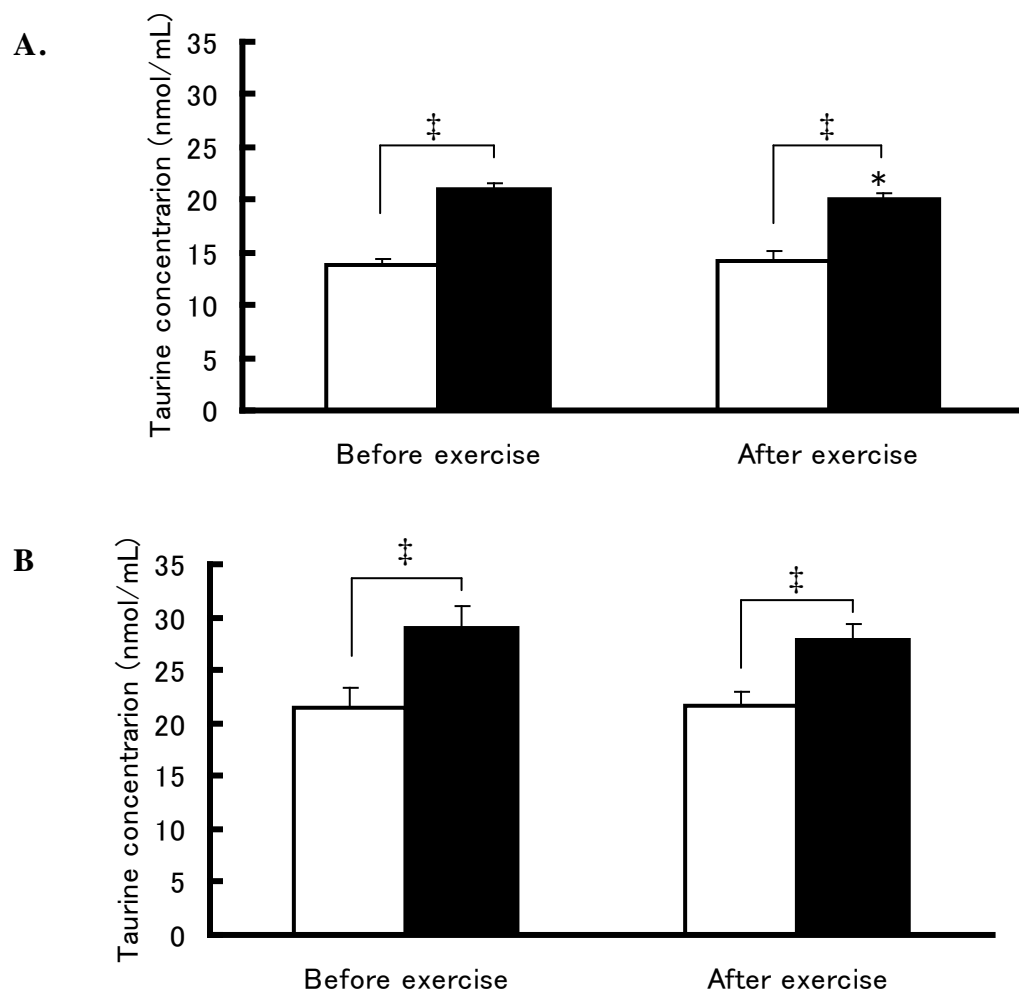
3 週間投与後の腓腹筋内側頭白色部, 赤色部のタウリン濃度を Figure 12 に示した．3 週間投与によって, すべての組織および血漿においてタウリン濃度は有意に増加した．3 週間投与において, タウリン投与群で腓腹筋白色部のタウリン濃度が運動によって減少した．



**Figure 10.** Body weights following taurine supplementation for three weeks. The taurine-supplemented group received 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented groups received water as vehicle, for three weeks.  $\Delta$ , non-supplementation (n=14).  $\blacksquare$ , taurine supplementation (n=13). Values are means  $\pm$  SD.



**Figure 11.** Times of exercise to exhaustion on a treadmill in non-supplemented and taurine-supplemented group. The rats were not able to continue running and they were not able to right themselves when placed on their back. Exercise times are shown for three weeks; non-supplemented group (n=6), taurine-supplemented group (n=7). Each group of animals was tested on a treadmill (21.7m/min) until exhaustion. Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group was given 3% taurine in the water for three weeks. †'  $P < 0.05$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented.



**Figure 12.** Taurine concentrations in gastrocnemius muscle.

□, Non-supplemented group. ■, Taurine-supplemented group. A, White portion of gastrocnemius muscle. B, Red portion of gastrocnemius muscle. Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group was given 3% taurine in the water for three weeks. ‡,  $P < 0.01$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented groups. \*,  $P < 0.05$  for sedentary vs. exercised groups.

#### **D. 血糖値**

運動群において、運動前後における血糖値を Figure 13 に示した。疲労困憊に至る走行によって血糖値は有意に低下した。運動前後の血糖値は、非投与群とタウリン投与群との間に有意な差は認められなかった。

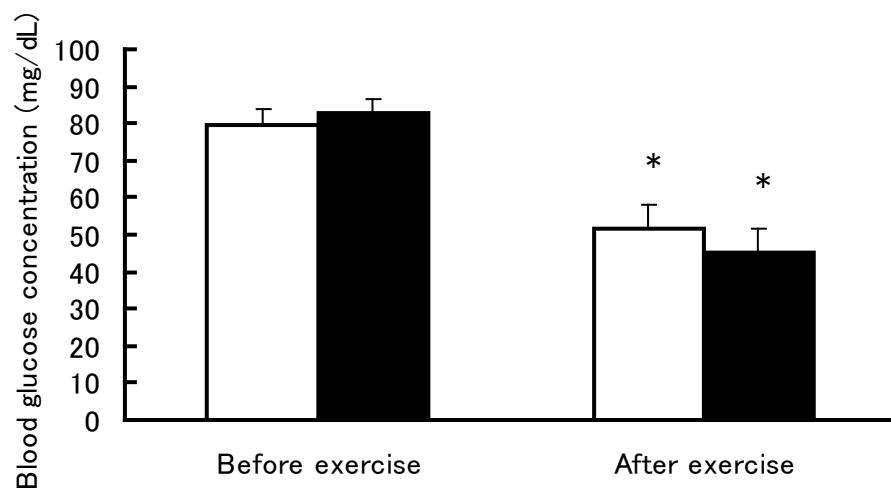
#### **E. 腓腹筋タウリン濃度と疲労困憊までの走行時間の相関**

3 週間投与において運動後の腓腹筋白色部および赤色部のタウリン濃度と疲労困憊までの走行時間との相関をそれぞれ Figure 14 (A,B) に示した。3 週間投与において、運動後の腓腹筋白色部および赤色部のタウリン濃度と疲労困憊までの走行時間にそれぞれ有意な相関 ( $r=0.67$ ,  $p=0.01$ ;  $r=0.57$ ,  $p<0.05$ ) を認めた。

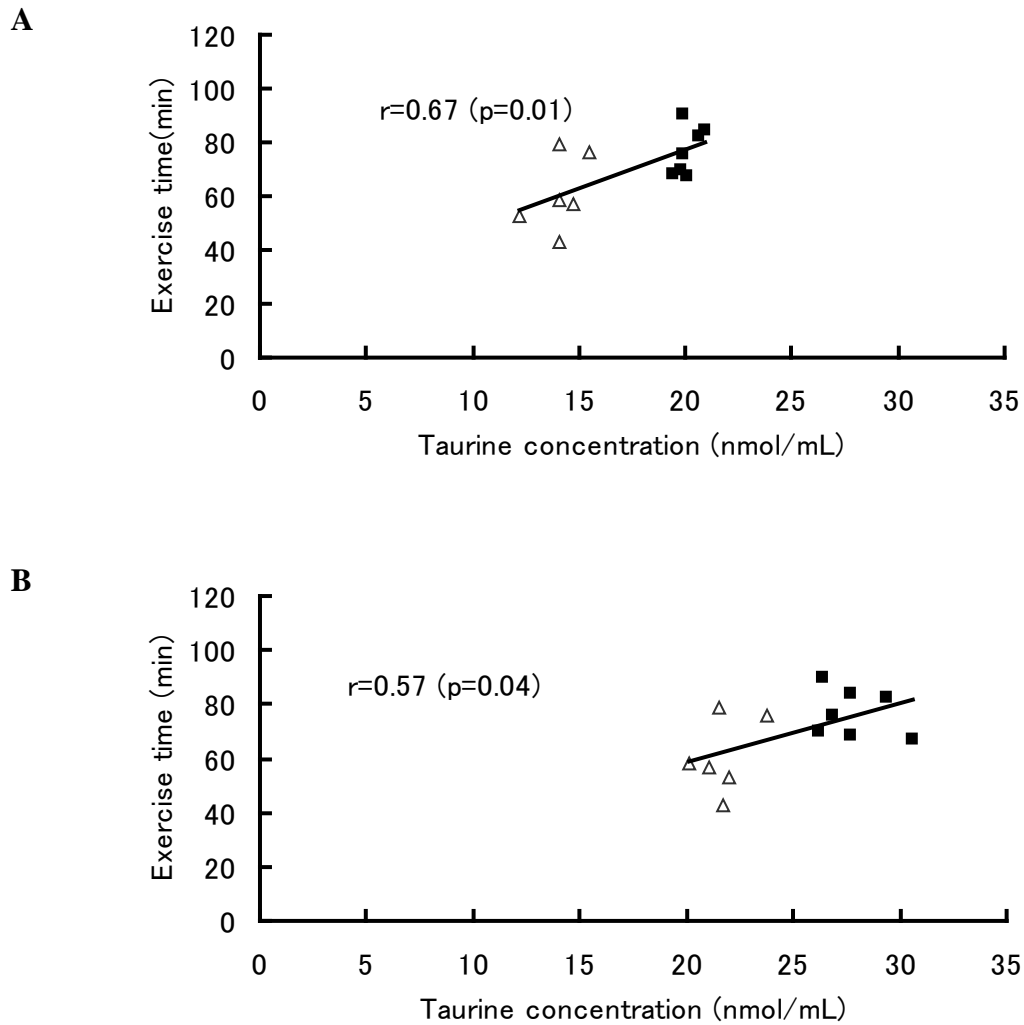
### **3-2. 結果(研究課題2-2)**

#### **A. 体重変化および摂水量, 摂食量, タウリン投与量**

2 週間のタウリン投与期間中の体重変化を Figure 15 に示す。2 週間のタウリン投与によって体重変化には有意な差は認められなかった。また、2 週間のタウリン投与期間中の摂水量は 2wTau, 2wCon においてそれぞれ  $21.4 \pm 2.7$  mL,  $23.0 \pm 2.1$  mL で、摂餌量は 2wTau, 2wCon においてそれぞれ  $14.1 \pm 0.9$  g,  $13.6 \pm 0.9$  g であった。タウリン投与期間中の摂水量と摂餌量においてタウリン投与によって有意な差を認めなかった。飲水量から見積もったタウリン投与量は  $3.0 \pm 0.3$  g/kg  $\cdot$  BW/day であった。3 週間の群は研究課題 2-1 と同様である。

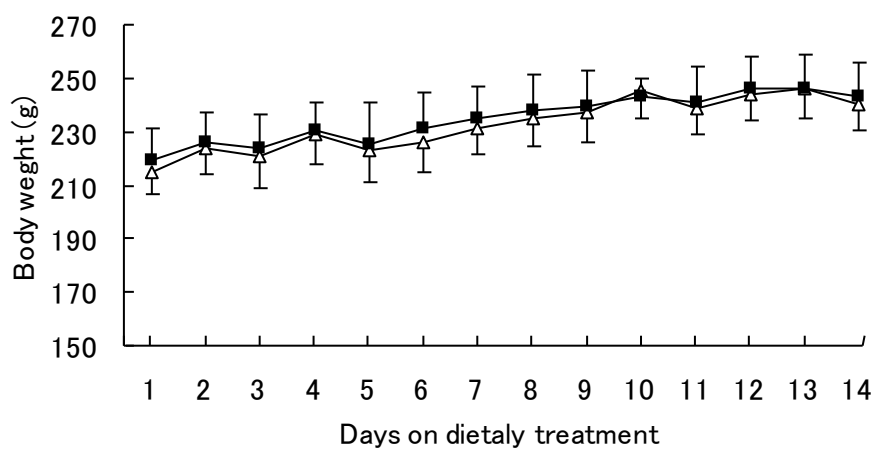


**Figure 13.** Changes in blood glucose concentrations. Blood was also collected from the tail vein before and immediately after exercise to exhaustion in non-supplemented and taurine-supplemented group. □ , non-supplemented group (n=6). ■ , taurine-supplemented group (n=7). Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group was given 3% taurine in the water for three weeks. \*  $P < 0.05$  for before exercise vs. after exercise.



**Figure 14.** Correlation of taurine concentration in gastrocnemius muscle after exercise to exhaustion with exercise time. A, white portion of gastrocnemius muscle. B, red portion of gastrocnemius muscle. ■, Taurine-supplemented group (n=7); △, Non-supplemented group (n=6). Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group was given 3% taurine in the water for three weeks.





**Figure 15.** Body weights following taurine supplementation for two weeks. The taurine-supplemented group received 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented groups received water as vehicle, for two weeks.  $\triangle$ , Non-supplemented (n=7).  $\blacksquare$ , Taurine-supplemented (n=8). Values are means  $\pm$  SD.

## **B. 2週間投与におけるアミノ酸濃度**

2週間投与後の腓腹筋内側頭白色部、赤色部のアミノ酸濃度を Table 4, 5 に示した。腓腹筋白色部においては、タウリン投与群は非投与群に比べ尿素・スレオニン・セリン・シトルリン濃度がタウリン投与によって有意に低下した。加えて、メチオニン・ヒスチジン・リジン濃度はタウリン投与によって有意に増加した。腓腹筋赤色部において、尿素・スレオニン・グリシン・シトルリン濃度がタウリン投与によって低下した。アミノ酸は、性質によって、必須/非必須、極性、側鎖の構造、そして糖原生/ケト原生などに分類できる。これら減少したアミノ酸の共通性を見出すために、アミノ酸の性質に従って、必須/非必須、極性、側鎖の構造で分類したものの共通性を見出すことはできなかった。その中で、タンパク質を構成するアミノ酸を必須アミノ酸と非必須アミノ酸に分け、非投与群を 100 として、相対値で表したものを示す (Table 6)。さらに、アミノ酸の異化経路である、ケト原性あるいは糖原性の生成物、すなわちピルビン酸あるいは TCA 回路の中間体別にグループ分けをし、非投与群を 100 として、相対値で表した (Table 7)。

## **C. 3週間投与実験**

### **i) タウリンにおけるアミノ酸濃度変化**

2週間のタウリン投与によって、糖新生系においてピルビン酸の前駆体であるスレオニン・セリン濃度が腓腹筋白色部で、スレオニンに加え同様にピルビン酸の前駆体であるグリシン濃度が腓腹筋赤色部で低下した。それゆえ、タウリン投与の1週間延長と疲労困憊まで運動を負荷したときのピルビン酸前駆体であるアミノ酸への影響に焦点を

**Table 4.** Amino acid concentrations in the white portion of gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks

Amino Acids	Non-supplemented	Taurine-supplemented
taurine	14.81±1.59	21.77±0.77‡
urea	12.20±1.19	9.32±1.22‡
asparate	0.39±0.71	0.41±0.06
threonine	0.50±0.04	0.42±0.03‡
serine	0.66±0.07	0.56±0.04‡
glutamate	0.70±0.08	0.63±0.12†
glycine	4.20±0.40	3.94±0.47
alanine	3.24±0.32	3.00±0.34‡
citlulline	0.25±0.03	0.21±0.02‡
valine	0.26±0.05	0.27±0.06
methionine	0.06±0.01	0.08±0.01†
isoleucine	0.16±0.04	0.16±0.04
leucine	0.20±0.05	0.21±0.05
tyrosine	0.16±0.02	0.18±0.01
phenylalanin	0.09±0.02	0.10±0.02
ornitine	0.03±0.00	0.03±0.01
histidine	0.18±0.01	0.20±0.01
lysine	0.40±0.05	0.58±0.12
3M-His	0.01±0.01	0.02±0.00
arginine	0.17±0.02	0.20±0.04†
proline	0.32±0.04	0.31±0.01

Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group (n=8) was given 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). †,  $P<0.05$ ; ‡,  $P<0.01$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented groups by unpaired Student's *t*-test.

**Table 5.** Amino acid concentrations in the red portion of gastrocnemius

muscle following taurine supplementation for 2 weeks

Amino Acids	Non-supplemented	Taurine-supplemented
taurine	26.35±1.61	30.34±3.27‡
urea	13.11±1.37	9.62±2.06‡
asparate	0.60±0.08	0.54±0.11
threonine	0.51±0.06	0.43±0.06†
serine	0.80±0.11	0.68±0.12‡
glutamate	1.43±0.30	1.15±0.31†
glycine	2.19±0.17	1.84±0.16‡
alanine	4.03±0.50	3.76±0.38‡
citlulline	0.30±0.03	0.28±0.05‡
valine	0.26±0.06	0.26±0.04
methionine	0.06±0.01	0.07±0.08
isoleucine	0.16±0.04	0.15±0.03
leucine	0.21±0.05	0.20±0.04
tyrosine	0.16±0.01	0.15±0.05
phenylalanin	0.09±0.01	0.10±0.01
ornitine	0.03±0.00	0.03±0.00
histidine	0.24±0.01	0.24±0.01
lysine	0.50±0.11	0.62±0.13
3M-His	0.016±0.00	0.01±0.00
arginine	0.20±0.04	0.22±0.04
proline	0.32±0.02	0.31±0.05

Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group (n=8) was given 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). †,  $P<0.05$ ; ‡,  $P<0.01$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented groups by unpaired Student's *t*-test.

**Table 6.** Relative value of amino acid concentrations in the separating nutritional essential and nonessential in the gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks

Amino Acids	GC-W	GC-R
taurine	147 ‡	115 †
essential amino acids		
valine	102	98
leucine	107	98
isoleucine	103	94
phenylalanine	114	102
methionine	131 †	114
threonine	84 ‡	84 ‡
lysine	145 ‡	123
histidine	106 †	101
nonessential amino acids		
alanine	93	93
proline	105	97
glycine	85	83 ‡
serine	88 ‡	89
tyrosine	111	112
aspartate	72	92
glutamate	79	82
arginine	129	131

Values are mean  $\pm$  SD. The taurine-supplemented group (n=8) was given 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. †,  $P<0.05$ ; ‡,  $P<0.01$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented groups by unpaired Student's *t*-test.

**Table 7.** Relative value of amino acid concentrations in the separating glucogenic and ketogenic precursor in the gastrocnemius muscle following taurine supplementation for 2 weeks

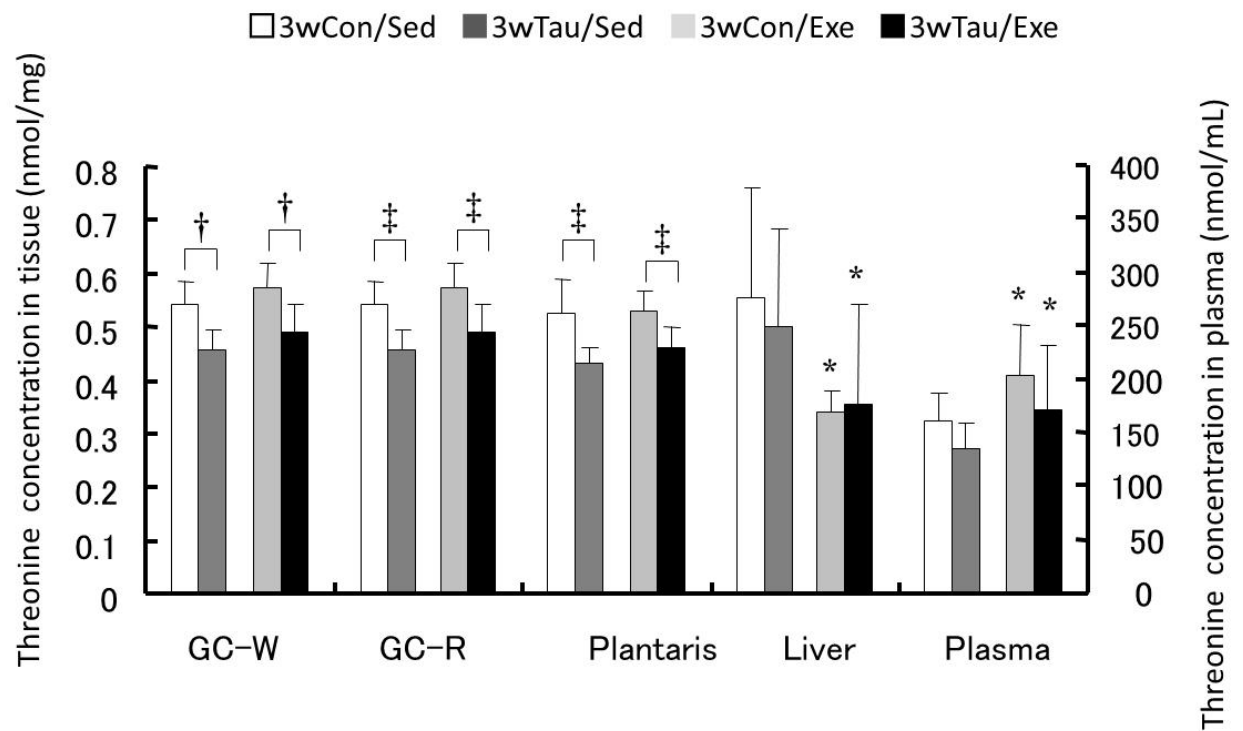
glucogenic/ketogenic precursor	Amino Acids	GC-W	GC-R
	taurine	147 ‡	115 †
	glucogenic amino acid		
pyruvate	threonine	84 ‡	84 ‡
	serine	84 ‡	85
	glycine	94	84 ‡
	alanine	93	93
succinyl CoA	valine	102	98
	methionine	131 †	114
	isoleucine	103	94
oxaloacetate	aspartate	105	90
α ketoglutarate	glutamate	90	80
	histidine	106 †	101
	arginine	119	113
	proline	95	99
fumarate	tyrosine	109	94
	phenylalanine	114	102
	ketogenic amino acid		
acetyl CoA	lysine	145 ‡	123
	leucine	107	98

Values are mean ± SD. The taurine-supplemented group (n=8) was given 3% taurine in drinking water, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. †,  $P<0.05$ ; ‡,  $P<0.01$  for non-supplemented vs. taurine-supplemented groups by unpaired Student's *t*-test.

当てた． Figure 16, 17, 18, 19 にそれぞれスレオニン，セリン，グリシン，アラニンの濃度を示した．測定した骨格筋すべてにおいて，3wTau/Sed, 3wTau/Exe のスレオニン濃度は，それぞれの対照群と比べて有意に低下した (Figure 16)．同様に測定したすべての骨格筋において，タウリン投与した安静・運動両群のセリン・グリシン濃度は有意に低下した (Figure 17, 18)．骨格筋アラニン濃度はタウリン投与によって影響を受けなかったが，3wTau/Exe は 3wCon/Exe に比べ腓腹筋赤色部においてのみ有意に低下した (Figure 19)．肝臓と血漿において，ピルビン酸の前駆体であるこれら四つのアミノ酸濃度はタウリン投与によって影響を受けなかった．

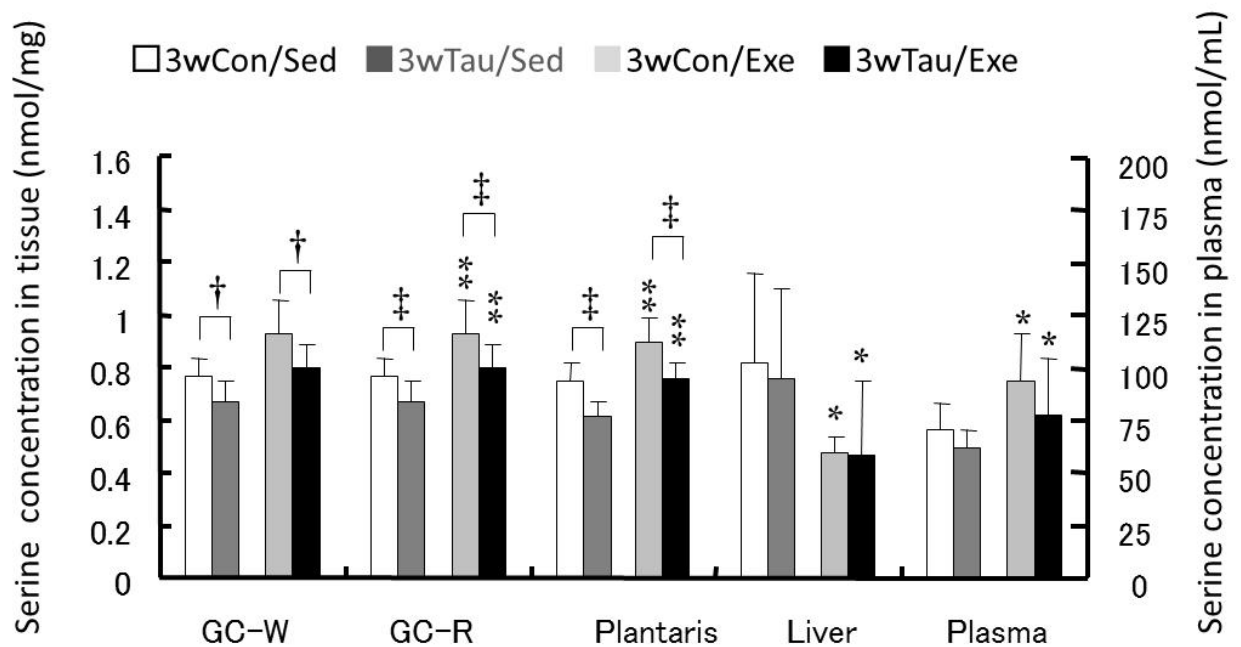
## ii) 走運動負荷によるアミノ酸濃度変化

3wCon と 3wTau の両群の骨格筋において，スレオニン・グリシン濃度は運動によって変化がなかった (Figure 16, 18)．骨格筋セリン濃度は，運動によって増加したが，腓腹筋白色部においては統計学的には有意ではなかった (Figure 17)．骨格筋アラニン濃度は，3wCon 群を除き，運動によって有意に低下した (Figure 19)．肝臓におけるスレオニン・セリン・グリシン濃度は，運動によって有意に低下したが，アラニン濃度は，運動によって有意に増加した．血漿のこれら四つのアミノ酸濃度は，運動によって増加したが，グリシン濃度は統計学的には有意ではなかった．

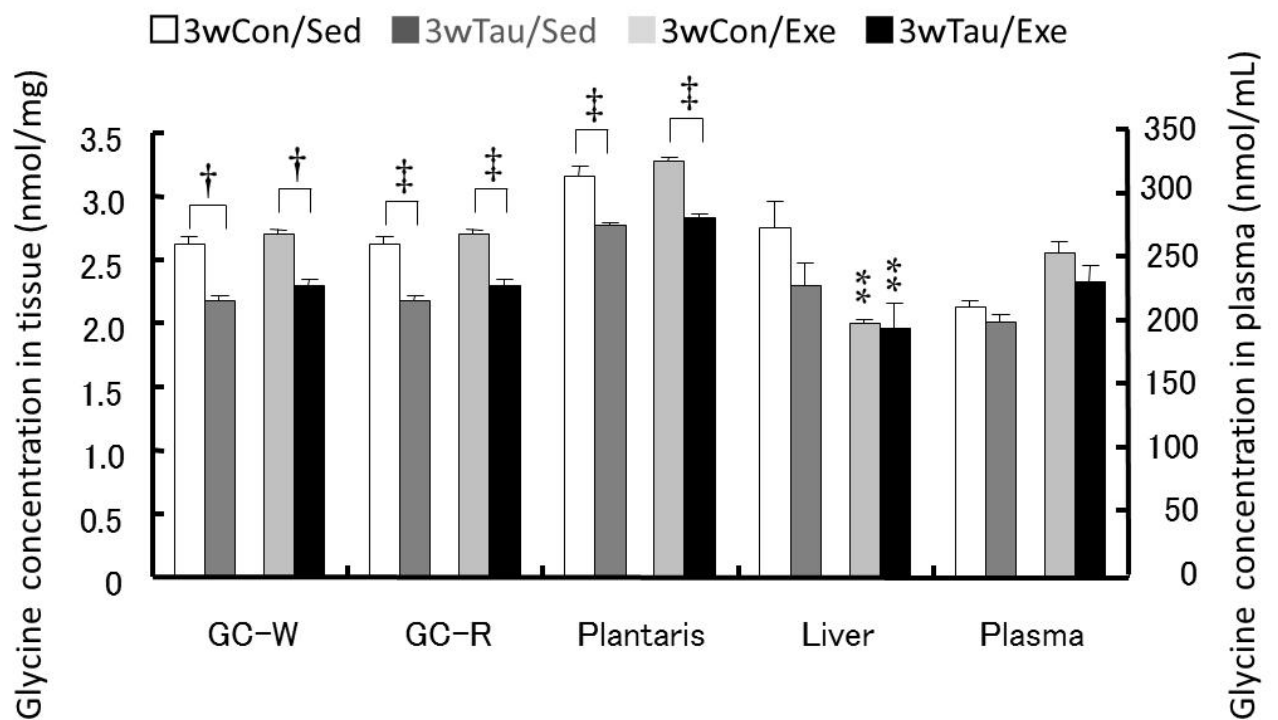


**Figure 16.** Threonine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise. Abbreviations: GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. 3wCon/Sed; three-week non-supplemented and sedentary, 3wTau/Sed; three-week taurine-supplemented and sedentary, 3wCon/Exe; three-week non-supplemented and exercised, 3wTau/Exe; three-week taurine-supplemented and exercised. Values are shown as the mean  $\pm$  SD. † with bar,  $P < 0.05$ ; ‡ with bar,  $P < 0.01$  for the non-supplemented vs. taurine-supplemented groups in the respective sedentary and exercised conditions. \* without bar,  $P < 0.05$ ; \*\* without bar,  $P < 0.01$ , for the exercised groups versus the respective sedentary group.

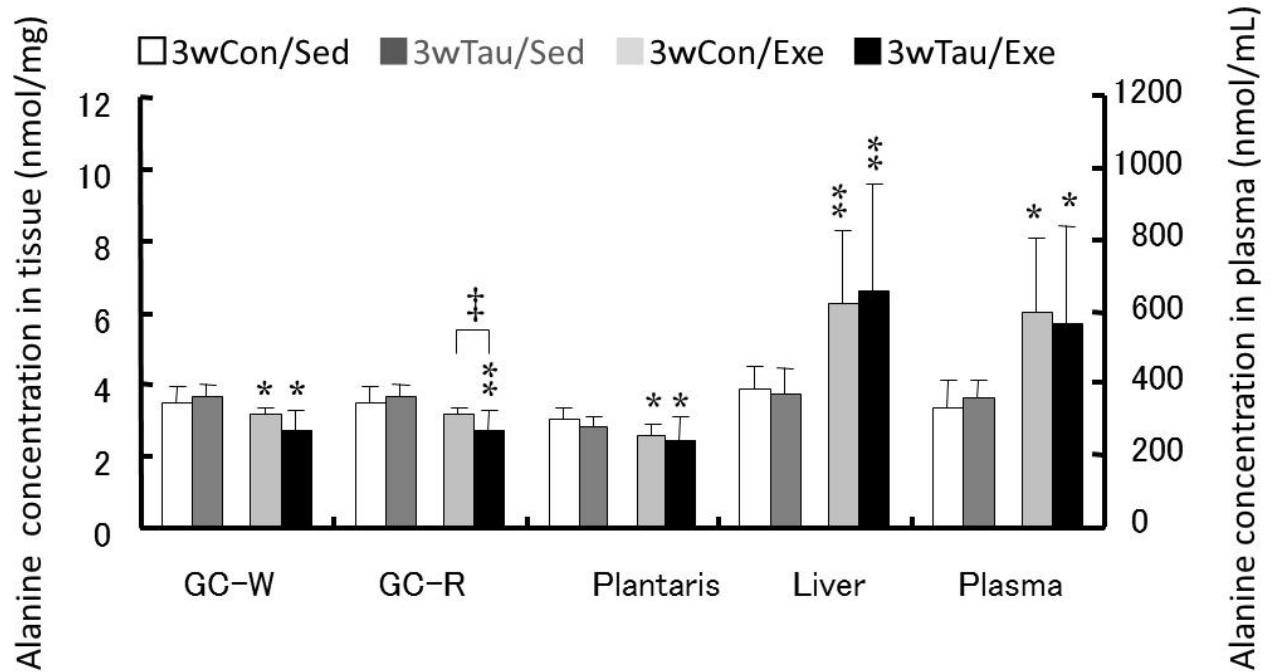




**Figure 17.** Serine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise. Abbreviations: GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. 3wCon/Sed; three-week non-supplemented and sedentary, 3wTau/Sed; three-week taurine-supplemented and sedentary, 3wCon/Exe; three-week non-supplemented and exercised, 3wTau/Exe; three-week taurine-supplemented and exercised. Values are shown as the mean  $\pm$  SD. † with bar,  $P<0.05$ ; ‡ with bar,  $P<0.01$  for the non-supplemented vs. taurine-supplemented groups in the respective sedentary and exercised conditions. \* without bar,  $P<0.05$ ; \*\* without bar,  $P<0.01$ , for the exercised groups versus the respective sedentary group.



**Figure 18.** Glycine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise. Abbreviations: GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. 3wCon/Sed; three-week non-supplemented and sedentary, 3wTau/Sed; three-week taurine-supplemented and sedentary, 3wCon/Exe; three-week non-supplemented and exercised, 3wTau/Exe; three-week taurine-supplemented and exercised. Values are shown as the mean  $\pm$  SD. † with bar,  $P < 0.05$ ; ‡ with bar,  $P < 0.01$  for the non-supplemented vs. taurine-supplemented groups in the respective sedentary and exercised conditions. \* without bar,  $P < 0.05$ ; \*\* without bar,  $P < 0.01$ , for the exercised groups versus the respective sedentary group.



**Figure 19.** Alanine concentrations in the tissues and plasma with or without taurine supplementation for three weeks or transient exercise. Abbreviations: GC-W; white portion of gastrocnemius muscle, GC-R, red portion of gastrocnemius muscle. 3wCon/Sed; three-week non-supplemented and sedentary, 3wTau/Sed; three-week taurine-supplemented and sedentary, 3wCon/Exe; three-week non-supplemented and exercised, 3wTau/Exe; three-week taurine-supplemented and exercised. Values are shown as the mean  $\pm$  SD. † with bar,  $P < 0.05$ ; ‡ with bar,  $P < 0.01$  for the non-supplemented vs. taurine-supplemented groups in the respective sedentary and exercised conditions. \* without bar,  $P < 0.05$ ; \*\* without bar,  $P < 0.01$ , for the exercised groups versus the respective sedentary group.

### iii) タウリンとスレオニン・セリン・グリシン・アラニン濃度との 相関

組織および血漿におけるタウリンとピルビン酸の前駆体アミノ酸濃度の相関係数を Table 8 に示す。腓腹筋赤色部におけるセリンを除き、骨格筋のタウリンとピルビン酸の前駆体アミノ酸濃度には有意な負の相関を認めた。しかしながら、骨格筋のタウリンとアラニン濃度には関係は観察されなかった。肝臓と血漿においては、タウリンとこれらアミノ酸濃度との間には有意な相関は認められなかった。

### iv) 骨格筋スレオニン・セリン・グリシン濃度と走行時間の相関

骨格筋スレオニン・セリン・グリシン濃度と疲労困憊に至るまでの走行時間との相関関係を検討したところ、腓腹筋白色部・赤色部のグリシン濃度と走行時間に有意な負の相関が認められた (Figure 20)。

## 4. 考察

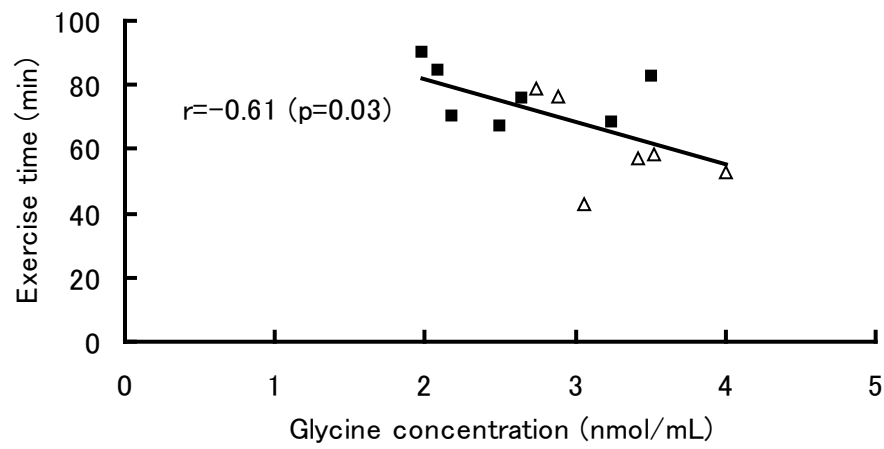
ラットへのタウリン 3 週間投与によって、疲労困憊までの走行時間が有意に延長し、タウリンの長時間持久性運動のパフォーマンス効果が得られ、これは Yatabe *et al.* (2003), Miyazaki *et al.* (2004) の先行研究を支持するものである。さらに、本研究課題 2-1 においては、一夜絶食をさせており、肝臓のグリコーゲンが枯渇していると推察される状況下においても、タウリン投与が疲労困憊までの走行時間を延長させた。また、Matsuzaki *et al.* (2002) は、疲労困憊後の腓腹筋、足底筋、長趾伸筋などの速筋優位筋でのみタウリン濃度の減少を報告した。本研究課題 2-1 において、腓腹筋を白色部と赤色部を分けて検討し

**Table 8.** Correlation coefficients between the concentrations of taurine and each pyruvate precursor amino acid in the tissues and plasma following taurine supplementation for 3 weeks

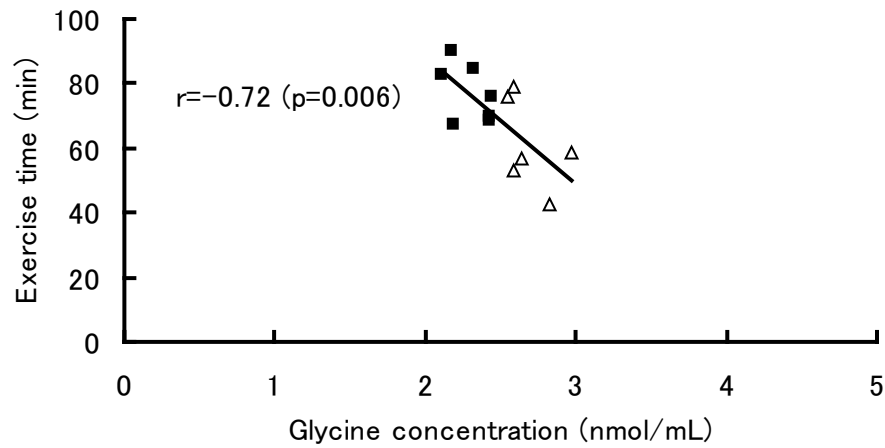
	Threonine	Serine	Glycine	Alanine
GC-W	- 0.476*	- 0.477*	- 0.482*	- 0.144
GC-R	- 0.530*	- 0.254	- 0.847**	- 0.033
Plantaris	- 0.791**	- 0.612**	- 0.882**	- 0.090
Liver	- 0.168	- 0.151	- 0.300	- 0.070
Plasma	0.171	0.211	0.212	0.348

\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$  for correlations with taurine concentration analyzed by Pearson's correlation coefficient. See footnote in Table 7 for abbreviations.

**A**



**B**



**Figure 20.** Correlation of glycine concentrations in gastrocnemius muscles after exercise to exhaustion with exercise time. A, white portion of gastrocnemius muscle. B, red portion of gastrocnemius muscle. ■, Taurine-supplemented group (n=7); △, Non-supplemented group (n=6). Values are mean  $\pm$  SD. The Taurine-supplemented group was given 3% taurine in the water for three weeks.

た．

タウリン投与によって腓腹筋の両部位のタウリン濃度は，有意に増加した．骨格筋タウリン濃度は，速筋に比べ遅筋において高濃度である結果，疲労困憊走行後のタウリン濃度はタウリン投与群の白色部においてのみ低値を示した．このことは，先行研究で認められた速筋優位筋における運動後のタウリン濃度の減少が，同一筋内の速筋部位においても運動で減少することが示された．さらに，疲労困憊後の腓腹筋タウリン濃度は走行時間と有意な相関を認め，速筋である白色部の方が遅筋である赤色部に比べ高い相関係数を認めた (Iwata *et al.*, 1986; Turinsky *et al.*, 1990)．このことは，生理学的機能として何らかの役割があるものと推察されるが，本研究課題の結果から，疲労困憊に至るような運動負荷を与えるような状況下においては，速筋のタウリン濃度を高めておくことが，運動パフォーマンスにとって重要であることが示唆される．

研究課題 2－2 において，骨格筋，肝臓，血漿のアミノ酸濃度へタウリン投与と一過性の疲労困憊に至る運動の影響を検討した．最初に，2 週間のタウリン投与によって，腓腹筋内の異なる筋線維タイプの二つの部位において，糖新生系においてピルビン酸の前駆体である，スレオニン・セリン・グリシン濃度の減少を確認した．アミノ酸の他の異化系路である糖原性，ケト原性のカテゴリーに属するアミノ酸において，タウリン投与による影響は認められなかった．それゆえ，さらにタウリン投与期間を 1 週間延ばし，糖新生系においてピルビン酸の前駆体に属するこれら三つのアミノ酸とアラニンに焦点を絞り骨格筋，肝臓，血漿中のアミノ酸濃度変化を運動負荷も加えて検討した．その結果，3 週間のタウリン投与によって，筋線維組成によらず腓腹筋白

色部・赤色部，足底筋のスレオニン・セリン・グリシン濃度は顕著に有意な減少を示したが，アラニン濃度は変化を認めなかった．タウリンの慢性投与によって，骨格筋や肝臓におけるアミノ酸濃度を検討したものは見当たらない．タウリン投与によって，骨格筋特異的にスレオニン・セリン・グリシン濃度が減少したことは，新知見である．これらの骨格筋アミノ酸濃度の減少がどのような生理的意義を持つのかについては今後の課題である．

運動中，血糖は肝臓からの糖の放出，すなわち肝グリコーゲンの分解と糖新生によって維持される．長時間運動時など，肝臓のグリコーゲンが枯渇し，糖利用が糖産生に追い付かなくなると血糖は低下する (Alborg *et al.*, 1982)．本研究課題 2－1 において，疲労困憊後の血糖値は非投与群，投与群両群において，運動前に比べ低値を示した．運動負荷前日から一夜絶食をさせていたため，肝臓のグリコーゲンは枯渇していたことが推察される．したがって，運動中は糖新生が亢進していたことが考えられる．アミノ酸を基質とした糖新生の大部分は肝臓で担っている．本研究課題において，肝臓のスレオニン・セリン・グリシン濃度は運動後に非投与・投与群で有意に低下し，研究課題 2－1 において，疲労困憊後の血糖値は減少した．これらのことから，スレオニン，セリン，グリシンが肝臓で利用されて減少したことが推察される．研究課題 1 において，長時間運動に伴う血糖低下がタウリン投与によって抑制されたことを示した．研究課題 1 において，長時間運動誘発性の血糖低下がタウリン投与で抑制された．本研究課題において，運動を疲労困憊に至るまで負荷したため，両群で血糖値は低下し差を認めなかった．しかしながら，タウリン投与群においては走行時間が有意に延長したことから，疲労困憊に至る前の時点において



は、タウリン投与群の方が高かった可能性が考えられる。また研究課題 1 においても一夜絶食をさせていることから、タウリン投与による血糖値の維持作用は、肝臓のグリコーゲンを増強したというよりは、運動中の糖新生が高まった可能性が推察されるが、運動中の骨格筋での糖の取り込みが抑制されたことも考えられるため、今後の検討が必要である。

実験動物を用いて骨格筋のアミノ酸濃度を総合的に評価した報告は数件ある。Wijekoon *et al.* (2004)は、Zucker 自然発生糖尿病モデルラットは成長と共に病態が進行するにしたがって、骨格筋タウリン濃度が上昇し、それに反してスレオニン、セリン、グリシン濃度が低下することを報告した (Wijekoon *et al.*, 2004)。加えて、これらアミノ酸の血漿濃度減少とセリンの肝臓における減少を示し、これらの低下は糖新生が増加したためだと考察している。糖尿病時には、Serine/threonine dehydratase や serine/pyruvate aminotransferase 活性が高まっている (Kanamoto *et al.*, 1993)。これとは逆に、タウリン枯渇食に加え、タウリンの構造類似体である GES を投与すると骨格筋中のタウリンが減少し、同時にこれら三つのアミノ酸が上昇する (Marnela *et al.*, 1984)。しかしながら、Korang *et al.*の報告によれば、タウリンを腹腔投与は、測定した循環器系組織や血漿でアミノ酸（スレオニン、セリン、グリシンを含む）濃度の同様な変化を示さなかった (Korgan *et al.*, 1996)。本研究課題や先行研究から、タウリンとこれら三つのアミノ酸は骨格筋特異的に競合するようにみえるが、一過性の投与によってはこの減少が認められないため、慢性的な投与が必要であることが示唆される。

他方ヒトへのタウリン投与において、同様なアミノ酸濃度変化は観察されなかつた報告がある (Galloway *et al.*, 2008)。一週間のタウリン投

与によって、外側広筋のグリシン濃度は有意に低下したものの、セリン・スレオニン濃度は有意に増加した。このヒトとラットにおける相違は、ヒトへの1週間タウリン投与によって、筋のタウリン濃度は変化がなかったためであると考えられる。

#### 4. 小括

タウリン3週間投与によって、長時間持久性運動のパフォーマンスとして疲労困憊までの走行時間が一夜絶食下においても有意に延長した。また、疲労困憊時の腓腹筋タウリン濃度変化は筋線維組成によって異なる。さらに、疲労困憊後の腓腹筋タウリン濃度は走行時間と有意な相関を認めた。このタウリン濃度と走行時間の相関は白色部で高く、速筋のタウリン濃度を高めておくことは、長時間持久性運動パフォーマンスにとって重要であることが示唆される。

タウリンの投与によって、骨格筋特異的にタウリン濃度の上昇に反して、糖新生系においてピルビン酸の前駆体であるアミノ酸、スレオニン・セリン・グリシン濃度が減少した。このタウリンによるこれら三つのアミノ酸の低下は、一過性の疲労困憊運動に影響されなかった。また、肝臓においてこれら三つのアミノ酸は疲労困憊運動後に有意に低下した。それゆえ、疲労困憊に至るまでの走行時間の延長などみられる長時間持久性運動パフォーマンスを向上させる一つの要因として、タウリン投与によるこれら三つのアミノ酸濃度の骨格筋や肝臓における変動が、直接的か間接的に作用した可能性が示唆された。

## Ⅵ. アミノ酸代謝ならびに血糖調節に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響（研究課題 3）

### 1. 目的

研究課題 1 の結果から長時間持久性運動に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制した．運動時には筋での糖の需要が高まり，血液中からの糖の取り込みが高まる．運動中は血糖を維持するために，肝においてグリコーゲン分解そして糖新生を行う．しかし長時間に至る運動において，この筋での需要に対して肝での供給が追いつかないと低血糖に陥る場合がある．また，研究課題 1 においては，運動前夜から一夜絶食をさせていたことから，肝グリコーゲンは枯渇していたことが考えられ，タウリンの血糖の維持作用は，筋において糖の取り込みが低下したか，肝臓において糖新生が高まったことが推察される．

研究課題 2 の結果から，ラットへのタウリン投与によって疲労困憊までの走行時間が延長した．疲労困憊後の骨格筋タウリン濃度は，腓腹筋白色部において減少を示し，疲労困憊までの走行時間は腓腹筋白色部の方が赤色部に比べ高い相関を示した．これらのことは，疲労困憊までの走運動に速筋のタウリン濃度が重要であることを示唆するものである．また研究課題 2 では，一夜絶食後をさせているため，肝グリコーゲンは枯渇していることが想定される．この状況下において，疲労困憊後の血糖値は非投与群，タウリン投与群共に低下していたことから，糖新生が亢進していたことが推察される．さらに，タウリン投与によって骨格筋タウリン濃度の上昇に反して，糖新生系においてピルビン酸の前駆体となるスレオニン・セリン・グリシン濃度が骨格筋特異的に低下した．これら三つのアミノ酸のみでは，筋タンパク合

成に用いられることはない。

そこで、研究課題3では、タウリン投与で減少したアミノ酸が骨格筋で代謝されたかどうかについて、さらに骨格筋における糖の需要を検討するために、それぞれアミノ酸代謝、糖代謝に関する骨格筋の遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について網羅的に遺伝子解析を行った。被検筋としてタウリン濃度と走行時間に相関の高かった腓腹筋白色部を用いて、DNAマイクロアレイ法にて検討した。

## **2. 方法**

### **A. 被験動物および飼育条件**

研究課題3は、筑波大学動物実験指針に基づき、動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

被験動物として、5週齢のFischer344系雄性ラット15匹（日本SLC株式会社, 静岡）を用いた。飼育環境は室内温度20～26℃, 湿度40～60%, 8:00～20:00を明期とした明暗サイクルを維持した。1週間の予備飼育, 投与期間中を通して1ケージ3匹で飼育した。毎朝8時に体重を測定した。飼料には動物用固形飼料（MF, オリエンタル酵母, 東京）を使用し, 自由摂取とした。飲料水には, 予備飼育中は水道水を用いた。

### **B. 群分け**

タウリン投与群 (n=8)と非投与 (n=7)に無作為に分けた。

### **C. タウリン投与**

タウリン（タウリン散「大正」, 大正製薬, 東京）を蒸留水に溶かし,

5 %タウリン水溶液を作成した．タウリン溶液は変性を避けるため，作製後，使用時まで冷蔵貯蔵した．タウリン投与群には，5 %タウリン水溶液をラット用経口ゾンデによって1日1回，2週間投与した．投与量は，1.0 g/kg/day とし，その日の体重から水溶液の量を算出し投与した．非投与群にはタウリン投与群と同様の手技で蒸留水を経口投与した．

#### **D. 組織の採取**

2週間投与後，一夜絶食をさせ，翌朝にペントバルビタールナトリウム 50 mg/kg/BW を腹腔に投与し，麻酔下で頸椎脱臼を施し屠殺した．腓腹筋を採取し，その際，腓腹筋は内側頭を白色部と赤色部に分け，液体窒素にて速やかに凍結させた．採取した組織は分析まで， $-80^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した．

#### **E. total RNA の抽出**

RNA 抽出用試薬 ISOGEN 1.5 mL を分注し，凍結した組織を落とし，融解するのを待ち，ホモジオナイズした．ホモジネート 1.5 mL をチューブに移し，遠心分離 (14000rpm,  $4^{\circ}\text{C}$  15 min) し，上清 0.8 mL を新たなチューブに移した．クロロホルム 160  $\mu\text{L}$  を加え，よく攪拌した後に，遠心分離 (14000rpm,  $4^{\circ}\text{C}$  20 min) をした．3層のうちの上層を新たなチューブに移し，750  $\mu\text{L}$  のイソプロパノールを加えよく混和した後，遠心分離 (14000rpm,  $4^{\circ}\text{C}$  5 min) し，RNA を沈殿させた．上清を捨て，80 %エタノールを 1.5 mL を加え，攪拌して沈殿物を洗浄した後，遠心分離 (14000rpm,  $4^{\circ}\text{C}$  1 min) し，上清を捨てた．蒸留水 50  $\mu\text{L}$  を加え，

RNA を融解しサンプルを得た．なお，抽出した RNA の品質を確認するために，分光測定 (Nano Drop)を行い，ホルムアルデヒド-アガロースゲル電気泳動を用い 28S および 18S のリボゾーム RNA バンドの確認を行った．

#### **F. Microarray 解析**

DNA マイクロアレイ解析に Agilent Expression Array 2 色法を用い，タカラバイオ株式会社ドラゴンジェノミクスセンターへ委託した．

### **3. 結果**

#### **A. タウリン投与による骨格筋遺伝子発現の変化**

Microarray チップ上に配置された遺伝子 45,209 個のうち，2 週間のタウリン投与によって，412 個が 2 倍以上の増加，200 個が 0.5 倍以下の減少を示した．

#### **B. スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素遺伝子発現の変化**

骨格筋におけるセリン，グリシン，スレオニンの代謝酵素の遺伝子発現の変化を Table 9 に示した．2 週間のタウリン投与によって，スレオニン，セリン，グリシンの代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかった．

#### **C. 糖代謝の遺伝子発現の変化**

骨格筋における解糖系酵素，糖輸送担体の遺伝子発現の変化を Table

**Table 9.** Gene expression changes of serine, glycine and threonine metabolism in rat skeletal muscle following two weeks taurine supplementation

Symbol	Gene description	Fold change
Sds	serine dehydratase	1.07
Psph	phosphoserine phosphatase	0.95
Psat1	phosphoserine aminotransferase 1	1.00
Phgdh	phosphoglycerate dehydrogenase	0.76
Shmt1	serine hydroxymethyltransferase 1	0.98
Shmt2	serine hydroxymethyltransferase 2	0.94
Tdh	L-threonine dehydrogenase	0.76

The taurine-supplemented group (n=8) was given 1g/BW/day taurine orally with a catheter, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). Fold change for the taurine-supplemented group per gene set in regard to the non-supplemented group.

10に示した。

#### 4. 考察

研究課題2の結果からタウリン投与によって骨格筋タウリン濃度の上昇に反して、糖新生系においてピルビン酸の前駆体となるアミノ酸スレオニン・セリン・グリシン濃度が骨格筋特異的に低下した。これら三つのアミノ酸のみでは、筋タンパク合成に用いられることはない。そこで、研究課題3では、これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに糖代謝に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について、網羅的に遺伝子解析を行い検討した。

タウリン投与によって、骨格筋スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかった。このことから、これらのアミノ酸は骨格筋で代謝されたのではないことが示唆される。すなわち骨格筋におけるこれらアミノ酸濃度の減少は、骨格筋から放出されたことが推察される。加えて、研究課題2において、これら三つのアミノ酸は、疲労困憊運動後に肝臓において減少を示した。これらのことから、タウリン投与によるこれら三つのアミノ酸の骨格筋における減少は、骨格筋から放出され、肝臓で利用された可能性がある。

研究課題1の結果から、長時間運動時に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制した。運動中の血糖は、糖の利用と糖の産生のバランスによって維持される。運動前夜から一夜絶食をさせていたことから、肝グリコーゲン枯渇していたことが考えられ、血糖の維持には、筋において糖の取り込みが低下したか、肝臓において糖新生が高まったことが推察される。糖代謝関連の遺伝子発現や骨格筋特異的糖輸送担体GLUT4の遺伝子発現にタウリン投与によって変化を認めなかったこ



**Table 10.** Gene expression changes of glycolysis and gluconeogenesis metabolism in rat skeletal muscle following two weeks taurine supplementation

Symbol	Gene description	Fold change
Hk2	hexokinase 2	0.94
Hk1	hexokinase 1	0.67
Pgm3	phosphoglucomutase	0.98
Pgm2l1	phosphoglucomutase 2-like	0.87
Pgm2	phosphoglucomutase 2	1.30
Fbp1	fructose-1,6- biphosphatase 1	1.62
Fbp2	fructose-1,6-bisphosphatase 2	1.09
Aldoc	aldolase C, fructose-bisphosphate	0.96
Aldoa	aldolase A, fructose-bisphosphate	0.94
Gapdh	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1.00
Gapdh-ps1	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, pseudogene 1	0.88
Pgk1	phosphoglycerate kinase 1	0.90
Pgk2	phosphoglycerate kinase 2	1.00
Pgam2	phosphoglycerate mutase 2	1.07
Eno3	enolase 3, beta, muscle	1.20
Eno1	enolase 1, (alpha)	0.91
Pkm2	pyruvate kinase, muscle	0.91
Ldhc	lactate dehydrogenase C	1.61
Ldha	lactate dehydrogenase A	0.91
Pygm	phosphorylase, glycogen, muscle	1.04
Gpi	glucose phosphate isomerase	0.89
Slc2a4	solute carrier family 2, member 4	1.00

The taurine-supplemented group (n=8) was given 1g/BW/day taurine orally with a catheter, while the non-supplemented group received water as vehicle for two weeks (n=7). Fold change for the taurine-supplemented group per gene set in regard to the non-supplemented group.

とから、長時間運動時に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制したことは、骨格筋による糖の需要や糖の取り込みが抑制されたのではなく、糖新生が亢進したことが推察される。

## 5. 小括

タウリン投与によって、骨格筋スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかったことから、これらのアミノ酸は骨格筋で代謝されたのではなく、骨格筋からこれらアミノ酸が放出されたことが推察される。解糖系酵素・骨格筋特異的糖輸送担体GLUT4の遺伝子発現にタウリン投与によって変化を認めなかったことから、長時間運動時に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制したことは、骨格筋による糖の取り込み抑制ではなく、糖新生が亢進して、血糖を維持したことが推察される。

## VII. 討論

### 1. 本研究の目的

運動時の疲労はパフォーマンスの低下を引き起こす. Newsholme and Blomstrand (1996)によれば疲労の代謝的要因は 5 つある. それは, 1) クレアチンリン酸の枯渇, 2)筋中陽イオンの蓄積 (代謝性アシドーシス), 3)筋グリコーゲンの枯渇, 4)血糖の低下, 5)血漿遊離トリプトファン/BCAA 比の上昇である. 長時間持久性運動時には 3),4),5)に絞ってよいと考えられる.

これまで, タウリン投与によって, ラット走行時間の延長などによる長時間持久性運動パフォーマンス向上の報告 (Yatabe *et al.*, 2003 ; Miyazaki *et al.*, 2004 ; Dawson *et al.*, 2002 ; Zhang *et al.*,2004)があるものの, そのメカニズムについては, LPO・酸化グルタチオンの抑制 (Miyazaki *et al.*, 2004), TBARSの抑制 (Dawson *et al.*, 2002; Zhang *et al.*,2004)などの抗酸化作用によるものであり, 上述のような疲労の原因について検討していない. タウリン投与による長時間持久性運動時パフォーマンスの増強を上述の疲労の要因で検討した研究はほとんどない. そこで本研究において, 長時間持久性運動時のパフォーマンスにタウリン投与が疲労の原因の一つである血糖の低下にどのように関与するのかを検討するために, 以下の三つの課題を設定した.

これまでの先行研究の中で唯一, 久保田と早乙女 (1974)はマウスを用いてタウリン投与によって長時間運動後の低血糖の抑制を示しているものの, 他の指標を検討しておらず, メカニズムについても言及していない. 長時間持久性運動時の血糖値の低下は疲労の一つの原因であり, 他方, 糖尿病などの糖代謝異常に対して, タウリン投与が血糖

値の是正効果を持つことが示されている。したがって、運動が長時間に及ぶことによってもたらされる糖代謝のアンバランスをタウリン投与が抑制する可能性が考えられる。そこで【研究課題 1】では、ヒトにおいても長時間持久性運動時に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制するという仮説を立て、RER、RPE、そして血中パラメーターを測定することによって代謝内分泌応答を検討した。

タウリンは含硫アミノ酸の最終代謝物で、広義ではアミノ酸と考えられる。アミノ酸投与により糖代謝へ影響を及ぼすものや血中アミノ酸比の変化を引き起こし、その結果として疲労を軽減し、さらにパフォーマンスを増強する報告がある。また、BCAA 投与はグルタミン濃度変化を引き起こすなど、他のアミノ酸へ影響を及ぼすアミノ酸もある。一方、一過性のタウリン投与は、血漿、心筋、動脈、静脈の組織アミノ酸濃度を変化させた報告がある (Korang *et al.*, 1996)。このように、外因性のタウリン投与は組織中の他のアミノ酸濃度に影響を及ぼす可能性がある。研究課題 1 の結果から、長時間持久性運動時の血糖低下を抑制することがヒトでも明らかになった。そこで、含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリン投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立てた。そこで、【研究課題 2】では、長時間持久性運動時の代謝に関わる骨格筋と肝臓において、タウリン投与と長時間持久性運動が他のアミノ酸濃度変化に及ぼす影響を検討した。

研究課題 2 の結果からタウリン投与によって骨格筋タウリン濃度の上昇に反して、糖新生系においてピルビン酸の前駆体となるスレオニン・セリン・グリシン濃度が骨格筋特異的に低下した。これら三つのアミノ酸のみでは、筋タンパク合成に用いられることはない。そこで、

【研究課題 3】では、これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに糖代謝に及ぼす骨格筋の遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について、網羅的に遺伝子解析を行い検討した。

## 2. 本研究で得られた知見

研究課題 1 において、ヒトにおいても長時間持久性運動に伴う血糖低下がタウリン投与によって有意に抑制された。久保田と早乙女(1975)は、マウスにランニングまたは遊泳を負荷すると運動後に低血糖を示すが、タウリン投与をすると血糖低下が抑制されたと報告している。本研究においても久保田と早乙女の報告と同様の結果が得られたことから、ヒトにおいてもタウリンの長時間運動に伴う血糖低下の抑制効果が示された。さらに、120 分運動の最終局面において、非投与条件に比べタウリン投与条件において RPE の低下傾向を示したことの要因の一つとして血糖低下抑制効果が挙げられ、タウリンが疲労を軽減する可能性がある。また呼吸交換比においては、非投与条件に比べタウリン投与条件において高い傾向が認められ、運動後半である運動開始 75 分から運動終了までの呼吸交換比曲線下面積もタウリン投与条件において有意に高値を示した。さらに血清遊離脂肪酸は、両条件間で有意な差を認めなかったことから、タウリン投与が長時間持久性運動時の血糖低下を抑制した要因は脂質代謝の亢進ではなく糖質の利用が維持されたことが推察される。

研究課題 2 によって、ラットへのタウリン 3 週間投与が、疲労困憊までの走行時間が有意に延長し、タウリン投与による長時間持久性運動のパフォーマンス効果が得られた。これは Yatabe *et al.* (2003), Miyazaki *et al.* (2004)の先行研究を支持するものである。さらに、研究

課題 2-1 においては、一夜絶食をさせており、肝臓のグリコーゲンが枯渇していると推察される状況下においても、タウリン投与が疲労困憊までの走行時間を延長を示した。また、Matsuzaki *et al.* (2002)は、疲労困憊後の腓腹筋、足底筋、長趾伸筋などの速筋優位筋でのみタウリン濃度の減少を報告した。本研究課題 2-1 において、腓腹筋内側頭を白色部と赤色部を分けて検討した結果、タウリン投与群の白色部においてのみ、疲労困憊までの走行後においてタウリン濃度は低値を示した。このことは、速筋優位筋で認められた運動後のタウリン濃度の減少同様に、同一骨格筋内の速筋部位においても運動で減少することを示すものである。さらに、疲労困憊後の腓腹筋タウリン濃度は走行時間と有意な相関を認め、速筋である白色部の方が遅筋である赤色部に比べ高い相関係数を認めた。

研究課題 2-2 において、骨格筋、肝臓、血漿のアミノ酸濃度へタウリン投与と一過性と疲労困憊に至る運動の影響を検討した。最初に、2 週間のタウリン投与によって、腓腹筋内の異なる筋線維タイプの二つの部位において、糖新生系におけるピルビン酸の前駆体である、スレオニン・セリン・グリシン濃度の減少を確認した。アミノ酸の異化系路は他の糖新生系やケト原性系など存在するが、タウリン投与によるアミノ酸変動への影響は認められなかった。それゆえ、さらにタウリン投与期間を 1 週間延ばし、ピルビン酸の前駆体に属するこれら三つのアミノ酸とアラニンの骨格筋、肝臓、血漿中におけるアミノ酸濃度変化に焦点を絞り検討した。その結果、3 週間のタウリン投与によって、筋線維組成によらず骨格筋のスレオニン・セリン・グリシン濃度は有意に減少したが、アラニン濃度は変化を認めなかった。タウリン投与によって、骨格筋中のタウリン濃度上昇に反して、糖新生系に

におけるピルビン酸前駆体アミノ酸が減少した報告は見当たらず，本研究における新知見である．

研究課題 3 では，これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに血糖調整に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について，網羅的に遺伝子解析を行い検討した．タウリン投与によって，骨格筋スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかった．このことから，これらのアミノ酸は骨格筋で代謝されたのではないことが示唆される．糖代謝の遺伝子発現や骨格筋特異的糖輸送担体GLUT4の遺伝子発現にタウリン投与によって変化を認めなかったことから，長時間運動時に伴う血糖低下をタウリン投与によって抑制したことは，骨格筋による糖の需要や糖の取り込みが抑制されたのではなく，糖新生が亢進したことが推察される．

### **3. 長時間持久性運動パフォーマンスに及ぼすタウリン投与の影響に関する考察**

これまで，タウリン投与によって，ラット走行時間の延長などによる長時間持久性運動パフォーマンス向上の報告 (Yatabe *et al.*, 2003 ; Miyazaki *et al.*, 2004 ; Dawson *et al.*, 2002 ; Zhang *et al.*, 2004) の報告があるものの，そのメカニズムについては，LPO・酸化型グルタチオンの抑制 (Miyazaki *et al.*, 2004)，TBARSの抑制 (Dawson *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2004) など抗酸化作用によるものであり，これらの先行研究においては，疲労の原因となるパラメーターについて検討していない．さらにタウリン投与による長時間持久性運動時パフォーマンスの増強を上述の疲労の要因について検討した研究はほとんど見当たらない．

これまでの先行研究の中で唯一、久保田と早乙女 (1974)はマウスを用いてタウリン投与によって長時間運動後の低血糖の抑制を示したものの、他の指標は検討しておらず、メカニズムについても言及していない。さらにその後の追試も見当たらない。研究課題 1 において、ヒトにおいても長時間持久性運動に伴う血糖低下がタウリン投与によって有意に抑制された。久保田と早乙女 (1975)のマウスで得られた結果と同様であるが、ヒトにも応用できることを示した。運動最終局面で非投与条件と比べタウリン投与条件において RPE の低下傾向が得られたことは、長時間持久性運動時の血糖低下に伴う疲労を抑制する可能性もある。特に非投与条件で 15%以上の血糖低下を示した 5 人の被検者は、タウリン投与条件で大幅な改善を示した。また非投与条件において運動 80 分で疲労困憊に至った被検者はその時点で血糖は 44mg/dL であったが、タウリン投与条件では運動 120 分まで遂行したにも関わらず、血糖は 58 mg/dL であった。Baum and Weiss (2001)は、タウリン含有ドリンクを用いた実験後に、鍛錬者より非鍛錬者において効果が大きかったかもしれないと考察していることから、本研究においては、被検者として非鍛錬者を用いた。このような長時間持久性運動による血糖低下を示す非鍛錬者の被検者にとってタウリン投与は、とくに有効である可能性が推察される。運動中の血糖は、糖の利用と肝グリコーゲンの分解と糖新生による糖産生のバランスによって維持される。研究課題 1 において、肝グリコーゲンが枯渇するような一夜絶食下において運動負荷をさせていることから、タウリンの血糖の維持には、筋において糖の取り込みが低下したか、肝臓において糖新生が高まったことが推察される。また、呼吸交換比において、運動後半である運動開始 75 分から運動終了までの呼吸交換比曲線下面積において非投



与条件に比べタウリン投与条件において有意に高値を示した．さらに血清遊離脂肪酸は，両条件間で有意な差を認めなかったことから，タウリン投与が長時間持久性運動時の血糖低下を抑制した要因は脂質代謝の亢進ではなく糖質の利用が維持されたことが推察される．

そこで，研究課題 2 においては，含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリン投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立てた．まずラットの実験系を確立するために，長時間持久性運動のパフォーマンスを疲労困憊に至るまでの走行時間とし，タウリン投与，非投与で検討した．その結果，一夜絶食下においても先行研究 (Yatabe *et al.*, 2003 ; Miyazaki *et al.*, 2004) 同様にタウリン投与によって疲労困憊までの走行時間が延長した．また，運動後の血糖は両群において有意に低下したものの，疲労困憊に至るまで運動を負荷したため両群において有意な差は認められなかった．しかしながら，タウリン投与群においては，走行時間が延長したこと，本研究課題 1 の結果から長時間運動誘発性の血糖低下をタウリンが抑制したことなどから，ラット走行時において疲労困憊直前の血糖値はタウリン投与群で高値を示した可能性も考えられる．

本研究課題 1 において，タウリン投与による血漿タウリン濃度の上昇は認めたものの，組織タウリン濃度は検討できなかった．そこで，本研究課題 2 において，ラットを実験動物として用い，タウリン投与による組織タウリン濃度を検討した．その結果，3 週間のタウリン投与によって，腓腹筋白色部，赤色部のタウリン濃度はそれぞれ 1.52 倍，1.35 倍に上昇し，先行研究 (Miyazaki *et al.*, 2004; Yatabe *et al.*, 2002) 同様にタウリン投与が組織濃度を上昇させていることを確認した．

Matsuzaki *et al.* (2002) は，疲労困憊運動後の腓腹筋，足底筋，長趾伸

筋などの速筋優位筋でのみタウリン濃度の減少を報告し、Miyazaki *et al.* (2004)はタウリン投与によって骨格筋タウリン濃度を高めることによって疲労困憊までの走行時間を延長できるとした。本研究課題において、腓腹筋を白色部と赤色部を分けて検討した結果、タウリン投与群の白色部においてのみ、疲労困憊に至る走行後においてタウリン濃度は低値を示した。このことは、速筋優位筋で認められた運動後のタウリン濃度の減少同様に、同一骨格筋内の速筋部位においても運動で減少することを示すものである。さらに、疲労困憊運動後の腓腹筋タウリン濃度は走行時間と有意な相関を認め、速筋である白色部の方が遅筋である赤色部に比べ高い相関係数を認めた。骨格筋タウリン濃度は筋線維タイプによって異なり、速筋線維よりも遅筋線維において高濃度に存在することが、ラット (Iwata *et al.*, 1986 ; Turinsky *et al.*, 1990)やヒト (Tallon *et al.*, 2007; Blomstrand and Essen-Gustavsson, 2009)で報告がある。したがって、遅筋におけるタウリンの生理的な意義が考えられる。しかしながら、持久的鍛錬者においては、遅筋と速筋の濃度差が認められなかったとの報告 (Essen-Gustavsson and Blomstrand, 2002)もあることからトレーニングによってタウリン濃度動態が変化する可能性があり、本研究で得られた結果も含めると、疲労困憊に至るような長時間持久性運動パフォーマンスには速筋のタウリン濃度が重要であることが示唆される。

次に骨格筋、肝臓、血漿のアミノ酸濃度へタウリン投与と一過性の疲労困憊に至る運動の影響を検討した。最初に、2週間のタウリン投与によって、腓腹筋内の異なる筋線維タイプの二つの部位において、糖新生系におけるピルビン酸の前駆体である、スレオニン・セリン・グリシン濃度の減少を確認した。アミノ酸の異化系路は他の糖新生系

やケト原生系など存在するが，タウリン投与によるアミノ酸変動への影響は認められなかった．それゆえ，さらにタウリン投与期間を1週間延長し，糖新生系におけるピルビン酸の前駆体に属するこれら三つのアミノ酸とアラニンに焦点を絞り骨格筋，肝臓，血漿中におけるアミノ酸濃度変化を検討した．その結果，3週間のタウリン投与によって，筋線維組成によらず骨格筋のスレオニン・セリン・グリシン濃度の減少は有意に顕在化した，アラニン濃度は変化を認めなかった．タウリン投与によって，骨格筋中のタウリン濃度上昇に反して，糖新生系におけるピルビン酸前駆体アミノ酸が減少したことについての報告はこれまでに見当たらず，本研究の最も新しい知見である．加えて，肝臓のスレオニン・セリン・グリシン濃度は疲労困憊に至る運動後に減少した．

実験動物を用いて骨格筋のアミノ酸濃度を総合的に評価した報告は限定的である．Wijekoon *et al.* (2004)は，Zucker 自然発生糖尿病モデルラットは成長と共に病態が進行し，その進行にしたがって骨格筋タウリン濃度が上昇し，それに反してスレオニン・セリン・グリシン濃度が低下することを報告した (Wijekoon *et al.*, 2004)．加えて，これらアミノ酸の血漿濃度減少と肝臓におけるセリン濃度の減少を示した．これとは逆に，タウリン枯渴食に加え，タウリンの構造類似体である GES を投与すると骨格筋中のタウリン濃度が減少し，同時にこれら三つのアミノ酸濃度が上昇する (Marnela *et al.*, 1984)．タウリン投与とは逆に，グリシンを投与すると肝臓のグリシン濃度の増加に反してタウリン濃度が減少する (Galindo *et al.*, 1992)．しかしながら，Korang *et al.* (1996)によれば，一過性のタウリンを腹腔投与は，測定した循環器系組織や血漿でアミノ酸（スレオニン，セリン，グリシンを含む）濃度の同様

な変化を示さなかった (Korgan *et al.*, 1996). 本研究課題や先行研究から、タウリンとこれら三つのアミノ酸は骨格筋特異的に競合するようにみえるが、一過性の投与によってはこのような競合が認められないため、慢性的な投与が必要であることが示唆される。他方、ヒトへの一週間のタウリン投与によって、同様なアミノ酸濃度変化を観察されなかった (Galloway *et al.*, 2008). タウリン投与によって、外側広筋のグリシン濃度は有意に低下したものの、セリン・スレオニン濃度は有意に増加した。本研究とこの先行研究の結果の差については、ヒトとラットという種の違いもありそうであるが、Galloway *et al.* (2008)の一週間のタウリン投与によって、骨格筋タウリン濃度の上昇が認められていないのが大きな要因であると考えられる。

研究課題 3 では、これら減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに血糖調整に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について、網羅的に遺伝子解析を行い検討した。タウリン投与によって、骨格筋スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかった。このことから、これらのアミノ酸は骨格筋で代謝されたのではないことが示唆される。すなわち骨格筋におけるアミノ酸濃度の減少は、アミノ酸が骨格筋から放出されたことが推察される。加えて、研究課題 2 において、これら三つのアミノ酸は、疲労困憊運動後に肝臓において減少を示した。このことは、減少を示したアミノ酸が肝臓で利用された可能性がある。運動中、血糖は肝臓からの糖の放出によって維持される。長時間運動時など、肝臓のグリコーゲンが枯渇し、糖利用が糖産生に追い付かなくなると血糖は低下する (Ahlborg *et al.*, 1982). 研究課題 2 - 1 において、疲労困憊後の血糖値は非投与群、投与群両群において、運動前に比べ低値を

示した．運動負荷前日から一夜絶食をさせていたため，肝臓のグリコーゲンは枯渇していたことが推察され，運動中は糖新生が亢進していたことが考えられる．アミノ酸を基質とした糖新生の多くは肝臓で担っている．Zucker 自然発生糖尿病モデルラットは成長と共に病態が進行するにしたがって，骨格筋タウリン濃度が上昇に反してスレオニン・セリン・グリシン濃度が低下することを報告し，加えて血漿におけるこれらアミノ酸減少と，肝臓におけるセリン濃度の減少を示した (Wijikoon *et al.*, 2004) ．Wijikoon *et al.* (2004)は，肝臓におけるこれらアミノ酸の低下は，糖尿病時に，Serine/threonine dehydratase や serine/pyruvate aminotransferase 活性が高まっている (Kanamoto *et al.*, 1993)ため糖新生が亢進したと考察している．

本研究課題 3 の結果からタウリン投与によって糖代謝の遺伝子発現や骨格筋特異的糖輸送担体 GLUT4 の遺伝子発現に変化を認めなかったことから，長時間運動時に伴う血糖低下を抑制するタウリンの効果は，タウリン投与によって，スレオニン，セリン，グリシンが骨格筋から放出され，肝臓にて糖の基質として運動中に利用され糖新生が亢進したことになることが推察される．

#### 4. 今後の課題

本研究の一連の実験により，タウリン投与の長時間持続性運動時のパフォーマンス向上の一つの要因として，長時間持続性運動時に伴う血糖低下を抑制することが示唆された．さらに，タウリン投与によって，タウリン濃度の上昇に反して，骨格筋特異的にスレオニン・セリン・グリシン濃度が減少した．疲労困憊運動後の肝臓におけるこれらアミノ酸は減少したことから，これらアミノ酸は肝臓において，糖新

生の基質として用いられ、長時間持久性運動に伴う血糖低下を抑制したことが推察される。しかしながら、タウリン投与による肝臓における糖新生の亢進を直接測定したものではなく、まだ議論の余地がある。そこで残された課題としては、放射線同位体などを用いて、運動負荷時の骨格筋における糖の取り込み、肝における糖新生へのタウリンの影響を明確にすることである。また、タウリン投与による骨格筋におけるスレオニン・セリン・グリシン濃度の低下においても、直接肝臓への移動を確認していないことから、今後の課題として更なる研究が必要であろう。

## 5. 本研究の限界

本研究では、研究課題 1 においては、非鍛錬者の若年男性を用いた。また、研究課題 2・3 においては、個体差が少なく生活環境を制御できるという点からラットを用いて研究を行った。本博士論文における結論はこれら被験者、ラットを用いた範囲内で検討し導き出されたものである。それゆえ、本研究で得られた結果があらゆるヒトに直ちに応用できるとは考えにくい。これらの点は、本研究の限界であるとして留意しなければならない。

## VIII. 結論

博士論文では，長時間持久性運動時のパフォーマンスに及ぼすタウリン投与の影響の一つのメカニズムとして，疲労の原因の一つである長時間持久性運動時の血糖の低下にタウリン投与がどのように関与するかを検討するために，II章の文献研究に基づき以下の課題を設定し，次のような結果が得られた．

### 《研究課題 1》

#### 長時間運動時の血糖低下に及ぼすタウリン投与の影響

長時間持久性運動時の血糖低下はパフォーマンスの低下を引き起こす．長時間持久性運動時の血糖低下抑制に及ぼすタウリンの効果について既存の報告はマウスに限られる（久保田と早乙女，1975）ため，非鍛錬者を用いてヒトで検討した．その結果，ヒトにおいても長時間持久性運動に伴う血糖低下がタウリン投与によって有意に抑制された．さらに，120分運動の最終局面において，非投与条件に比べタウリン投与条件においてRPEの低下傾向を示したことの要因の一つとして血糖低下が挙げられる．また呼吸交換比においては，運動後半である運動開始75分から運動終了までの呼吸交換比曲線下面積もタウリン投与条件において有意に高値を示した．さらに血清遊離脂肪酸は，両条件間で有意な差を認めなかったことから，タウリン投与が長時間持久性運動時の血糖低下を抑制した要因は脂質代謝の亢進ではなく糖質の利用が維持されたことが推察される．

## 《研究課題 2》

### タウリン投与と長時間持久性運動が骨格筋および肝臓におけるアミノ酸濃度変化に及ぼす影響

研究課題 1 の結果から，長時間持久性運動時の血糖低下を抑制することがヒトでも明らかになった．アミノ酸はそれ自体がエネルギー源としても利用され，糖新生の基質にもなる．また，アミノ酸の投与は運動中のグリコーゲン節約や他のアミノ酸濃度へ影響するとの報告もある．そこで，含硫アミノ酸の最終代謝物であるタウリンの投与が血糖調節系の一つとして骨格筋や肝臓のアミノ酸濃度動態へ影響しているという仮説を立てた．その結果，タウリン投与によって，骨格筋特異的にタウリン濃度の上昇に反して糖新生系においてピルビン酸の前駆体に属するスレオニン・セリン・グリシン濃度が減少した．これは疲労困憊運動の影響を受けなかった．また，疲労困憊時には肝臓において，スレオニン・セリン・グリシン濃度が減少した．これらのことは，本博士論文で得られた最も著名な新知見である．

## 《研究課題 3》

### アミノ酸代謝ならびに血糖調節に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響

研究課題 2 の結果で減少したアミノ酸の骨格筋におけるアミノ酸代謝ならびに糖代謝に関する骨格筋遺伝子発現に及ぼすタウリン投与の影響について，網羅的に遺伝子解析を行い検討した．タウリン投与によって，骨格筋スレオニン・セリン・グリシン代謝酵素の遺伝子発現には変化が認められなかった．このことから，これらのアミノ酸は骨格筋で代謝されたのではないことが示唆される．また，糖代謝の遺伝



子発現や骨格筋特異的糖輸送担体GLUT4の遺伝子発現にタウリン投与によって変化を認めなかった.

本研究で検討した三つの研究課題から得られた知見から, 長時間持久性運動時のパフォーマンスに及ぼすタウリン投与の影響の一つ要因として, タウリンによる長時間持久性運動時の血糖値の低下抑制が挙げられる. タウリン投与によって, 骨格筋特異的に糖新生時にピルビン酸を前駆体とするスレオニン・セリン・グリシン濃度が低下し, これらは, 骨格筋では代謝されずに放出され, 肝にて糖新生を亢進させたことによって長時間持久性運動時の血糖低下を抑制したことが推察される.

## Ⅸ. 謝辞

本稿を終えるにあたり，終始懇切丁寧な御指導を賜りました本学大学院人間総合科学研究科体育科学専攻大森肇教授に深く感謝するとともに，運動生化学大森研究室で培った経験を，今後の研究活動に活かしていきたいと思います．

また，本論文作成に際して御校閲を受け賜りました同研究科同専攻西平賀昭教授，麻見直美准教授，同研究科疾患制御医学専攻川上康教授に深甚なる謝意を表します．

そして，本研究を遂行するにあたり献身的な協力をいただきました同研究科スポーツ医学宮川俊平教授，論文作成に際して助言頂きました同研究科病態制御医学竹越一博准教授，実験や分析，論文作成を行うにあたり，多大な御指導をいただきました東京医科大学地域医療振興学宮崎照雄助教，臨床医学系内分泌糖尿病内科松坂賢助教に深謝いたします．また，本実験のアミノ酸測定に御協力を頂きました筑波大学分析センター中園広行技官，実験の遂行，論文作成に御協力いただいた大森研究室の皆様にご心よりお礼申し上げます．寛大な理解のもと，支援してくれた家族に深く感謝いたします．

最後に，被験者を引き受けていただいた皆様にご心より感謝いたします．また，研究の糧となるすべての実験動物に対し，深い感謝と追悼の意を表します．

## X. 文献

- Anthony, J., Anthony, T., Kimball, S., Vary, T., & Jefferson, L. (2000). Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation. *J Nutr*, 130(2), 139-145.
- Anthony, J., Anthony, T., & Layman, D. (1999). Leucine supplementation enhances skeletal muscle recovery in rats following exercise. *J Nutr*, 129(6), 1102-1106.
- Bassit, R., Sawada, L., Bacurau, R., Navarro, F., Martins, E. J., Santos, R., et al. (2002). Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes. *Nutrition*, 18(5), 376-379.
- Baum, M., & Weiss, M. (2001). The influence of a taurine containing drink on cardiac parameters before and after exercise measured by echocardiography. *Amino Acids*, 20(1), 75-82.
- Blomstrand, E., & Essén-Gustavsson, B. (2009). Changes in amino acid concentration in plasma and type I and type II fibres during resistance exercise and recovery in human subjects. *Amino Acids*, 37(4), 629-636.
- Blomstrand, E., Hassmén, P., Ek, S., Ekblom, B., & Newsholme, E. (1997). Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise. *Acta Physiol Scand*, 159(1), 41-49.

Blomstrand, E., & Saltin, B. (2001). BCAA intake affects protein metabolism in muscle after but not during exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281(2), E365-374.

Borg, G. (1970). Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med*, 2(2), 92-98.

Brooks, G., & Donovan, C. (1983). Effect of endurance training on glucose kinetics during exercise. *Am J Physiol*, 244(5), E505-512.

Brøns, C., Spohr, C., Storgaard, H., Dyerberg, J., & Vaag, A. (2004). Effect of taurine treatment on insulin secretion and action, and on serum lipid levels in overweight men with a genetic predisposition for type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr*, 58(9), 1239-1247.

Buford, T., Kreider, R., Stout, J., Greenwood, M., Campbell, B., Spano, M., et al. (2007). International Society of Sports Nutrition position stand: creatine supplementation and exercise. *J Int Soc Sports Nutr*, 4, 6.

Castell, L., & Newsholme, E. (1998). Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can J Physiol Pharmacol*, 76(5), 524-532.

Castell, L., & Newsholme, E. (2001). The relation between glutamine and the immunodepression observed in exercise. *Amino Acids*, 20(1), 49-61.

Castell, L. M. (2003). Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and in immunodepression. / Supplmentation en glutamine in vitro et in vivo, pour l 'exercice et l 'immunodepression. *Sports Medicine*, 33(5), 323-345.

Coombes, J., & McNaughton, L. (2000). Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. *J Sports Med Phys Fitness*, 40(3), 240-246.

Coyle, E., & Montain, S. (1992). Benefits of fluid replacement with carbohydrate during exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 24(9 Suppl), S324-330.

Cuisinier, C., Michotte De Welle, J., Verbeeck, R., Poortmans, J., Ward, R., Sturbois, X., et al. (2002). Role of taurine in osmoregulation during endurance exercise. *Eur J Appl Physiol*, 87(6), 489-495.

Cuisinier, C., Ward, R., Francaux, M., Sturbois, X., & de Witte, P. (2001). Changes in plasma and urinary taurine and amino acids in runners immediately and 24h after a marathon. *Amino Acids*, 20(1), 13-23.

Dawson, R. J., Biasetti, M., Messina, S., & Dominy, J. (2002). The cytoprotective role of taurine in exercise-induced muscle injury. *Amino Acids*, 22(4), 309-324.

de Araujo, J. J., Falavigna, G., Rogero, M., Pires, I., Pedrosa, R., Castro, I., et al. (2006). Effect of chronic supplementation with branched-chain amino acids on the performance and hepatic and muscle glycogen content in trained rats. *Life Sci*, 79(14), 1343-1348.

De Luca, A., Pierno, S., & Camerino, D. (1996). Effect of taurine depletion on excitation-contraction coupling and Cl<sup>-</sup> conductance of rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol*, 296(2), 215-222.

- Dohm, G., Kasperek, G., Tapscott, E., & Beecher, G. (1980). Effect of exercise on synthesis and degradation of muscle protein. *Biochem J*, 188(1), 255-262.
- Drouin, R., Lavoie, C., Bourque, J., Ducros, F., Poisson, D., & Chiasson, J. (1998). Increased hepatic glucose production response to glucagon in trained subjects. *Am J Physiol*, 274(1 Pt 1), E23-28.
- Durelli, L., Mutani, R., & Fassio, F. (1983). The treatment of myotonia: evaluation of chronic oral taurine therapy. *Neurology*, 33(5), 599-603.
- Durelli, L., Mutani, R., Fassio, F., & Delsedime, M. (1982). The effects of the increase of arterial potassium upon the excitability of normal and dystrophic myotonic muscles in man. *J Neurol Sci*, 55(3), 249-257.
- Durelli, L., Mutani, R., Fassio, F., Satta, A., & Bartoli, E. (1982). Taurine and hyperexcitable human muscle: effects of taurine on potassium-induced hyperexcitability of dystrophic myotonic and normal muscles. *Ann Neurol*, 11(3), 258-265.
- Essén-Gustavsson, B., & Blomstrand, E. (2002). Effect of exercise on concentrations of free amino acids in pools of type I and type II fibres in human muscle with reduced glycogen stores. *Acta Physiol Scand*, 174(3), 275-281.
- Franconi, F., Bennardini, F., Mattana, A., Miceli, M., Ciuti, M., Mian, M., et al. (1995). Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation. *Am J Clin Nutr*, 61(5), 1115-1119.

Fujita, T., Ando, K., Noda, H., Ito, Y., & Sato, Y. (1987). Effects of increased adrenomedullary activity and taurine in young patients with borderline hypertension. *Circulation*, 75(3), 525-532.

Galindo, J., Cremades, A., Monserrat, F., & Peñafiel, R. (1992). The effect of glycine administration on taurine concentration in the rat liver. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol*, 102(1), 147-149.

Galler, S., Hutzler, C., & Haller, T. (1990). Effects of taurine on Ca<sup>2+</sup>(+)-dependent force development of skinned muscle fibre preparations. *J Exp Biol*, 152, 255-264.

Galloway, S., Talanian, J., Shoveller, A., Heigenhauser, G., & Spriet, L. (2008). Seven days of oral taurine supplementation does not increase muscle taurine content or alter substrate metabolism during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol*, 105(2), 643-651.

Geiß, K. R., Jester, I., Falke, W., Hamm, M., & Waag, K. L. (1994). The effect of a taurine-containing drink on performance in 10 endurance-athletes. *Amino Acids*, 7, 45-56.

Hamadeh, M., Devries, M., & Tarnopolsky, M. (2005). Estrogen supplementation reduces whole body leucine and carbohydrate oxidation and increases lipid oxidation in men during endurance exercise. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(6), 3592-3599.

Hamilton, E., Berg, H., Easton, C., & Bakker, A. (2006). The effect of taurine depletion on the contractile properties and fatigue in fast-twitch skeletal muscle of the mouse. *Amino Acids*, 31(3), 273-278.

Harada, N., Ninomiya, C., Osako, Y., Morishima, M., Mawatari, K., Takahashi, A., et al. (2004). Taurine alters respiratory gas exchange and nutrient metabolism in type 2 diabetic rats. *Obes Res*, 12(7), 1077-1084.

Huxtable, R. (1992). Physiokogical action of taurine (Vol. 72, pp. 101-163). USA: the American Physiological Society.

Huxtable, R., & Bressler, R. (1973). Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. *Biochim Biophys Acta*, 323(4), 573-583.

Imagawa, T., Hirano, I., Utsuki, K., Horie, M., Naka, A., Matsumoto, K., et al. (2009). Caffeine and taurine enhance endurance performance. *Int J Sports Med*, 30(7), 485-488.

Iwashita, S., Williams, P., Jabbour, K., Ueda, T., Kobayashi, H., Baier, S., et al. (2005). Impact of glutamine supplementation on glucose homeostasis during and after exercise. *J Appl Physiol*, 99(5), 1858-1865.

Iwata, H., Obara, T., Kim, B., & Baba, A. (1986). Regulation of taurine transport in rat skeletal muscle. *J Neurochem*, 47(1), 158-163.

Izumi, K., Butterworth, R., & Barbeau, A. (1977). Effect of taurine on calcium binding to microsomes isolated from rat cerebral cortex. *Life Sci*, 20(6), 943-950.

Kanamoto, R., Su, Y., & Pitot, H. (1991). Effects of glucose, insulin, and cAMP on transcription of the serine dehydratase gene in rat liver. *Arch Biochem Biophys*, 288(2), 562-566.



- Kaplan, B., Karabay, G., Zağyapan, R., Ozer, C., Sayan, H., & Duyar, I. (2004). Effects of taurine in glucose and taurine administration. *Amino Acids*, 27(3-4), 327-333.
- Kim, B., Baba, A., & Iwata, H. (1986). Taurine transport in chronically stimulated fast- and slow-twitch muscles of the rat. *Jpn J Pharmacol*, 42(3), 441-446.
- Konikoff, F., & Theodor, E. (1986). Painful muscle cramps. A symptom of liver cirrhosis? *J Clin Gastroenterol*, 8(6), 669-672.
- Koopman, R., Wagenmakers, A., Manders, R., Zorenc, A., Senden, J., Gorselink, M., et al. (2005). Combined ingestion of protein and free leucine with carbohydrate increases postexercise muscle protein synthesis in vivo in male subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288(4), E645-653.
- Korang, K., Milakofsky, L., Hare, T., Hofford, J., & Vogel, W. (1996). Levels of taurine, amino acids and related compounds in plasma, vena cava, aorta and heart of rats after taurine administration. *Pharmacology*, 52(4), 263-270.
- Kuriyama, K. (1980). Taurine as a neuromodulator. *Fed Proc*, 39(9), 2680-2684.
- Lehmann, M., Huonker, M., Dimeo, F., Heinz, N., Gastmann, U., Treis, N., et al. (1995). Serum amino acid concentrations in nine athletes before and after the 1993 Colmar ultra triathlon. *Int J Sports Med*, 16(3), 155-159.
- MacLean, D., Graham, T., & Saltin, B. (1994). Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *Am J Physiol*, 267(6 Pt 1), E1010-1022.

- Manabe, S., Kurroda, I., Okada, K., Morishima, M., Okamoto, M., Harada, N., et al. (2003). Decreased blood levels of lactic acid and urinary excretion of 3-methylhistidine after exercise by chronic taurine treatment in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 49(6), 375-380.
- Marnela, K., Kontro, P., & Oja, S. (1984). Effects of prolonged guanidinoethanesulphonate administration on taurine and other amino acids in rat tissues. *Med Biol*, 62(4), 239-244.
- Matsuzaki, Y., Miyazaki, T., Miyakawa, S., Bouscarel, B., Ikegami, T., & Tanaka, N. (2002). Decreased taurine concentration in skeletal muscles after exercise for various durations. *Med Sci Sports Exerc*, 34(5), 793-797.
- Matsuzaki, Y., Tanaka, N., & Osuga, T. (1993). Is taurine effective for treatment of painful muscle cramps in liver cirrhosis? *Am J Gastroenterol*, 88(9), 1466-1467.
- Meeusen, R., Watson, P., Hasegawa, H., Roelands, B., & Piacentini, M. (2006). Central fatigue: the serotonin hypothesis and beyond. *Sports Med*, 36(10), 881-909.
- Miyazaki, T. (2010). Involvement of Taurine in the Skeletal Muscle on Exercise. *Advances in exercise and sports physiology*, 15(4), 131-134.
- Miyazaki, T., Matsuzaki, Y., Ikegami, T., Miyakawa, S., Doy, M., Tanaka, N., et al. (2004). Optimal and effective oral dose of taurine to prolong exercise performance in rat. *Amino Acids*, 27(3-4), 291-298.
- Nakagawa, K., & Kuriyama, K. (1975). Effect of taurine on alteration in adrenal functions induced by stress. *Jpn J Pharmacol*, 25(6), 737-746.

- Nandhini, A., Thirunavukkarasu, V., & Anuradha, C. (2005). Taurine modifies insulin signaling enzymes in the fructose-fed insulin resistant rats. *Diabetes Metab*, 31(4 Pt 1), 337-344.
- Nara, Y., Yamori, Y., & Lovenberg, W. (1978). Effect of dietary taurine on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Pharmacol*, 27(23), 2689-2692.
- Newsholme, E., & Blomstrand, E. (1996). The plasma level of some amino acids and physical and mental fatigue. *Experientia*, 52(5), 413-415.
- Norton, L., & Layman, D. (2006). Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *J Nutr*, 136(2), 533S-537S.
- Ono, M., Watanabe, M., Nagao, N., Ikeda, M., Yamamoto, T., Onodera, S. H. O., et al. (1980). Effect of taurine on the metabolism with exercise (1) : Healthy young men taking a low-carbohydrate, high-fat and protein diet. *Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 29(4), 191-204.
- Patel, J., & Lau-Cam, C. (2006). Taurine attenuates pyridoxal-induced adrenomedullary catecholamine release and glycogenolysis in the rat. *Adv Exp Med Biol*, 583, 147-156.
- Pierno, S., Tricarico, D., De Luca, A., Campagna, F., Carotti, A., Casini, G., et al. (1994). Effects of taurine analogues on chloride channel conductance of rat skeletal muscle fibers: a structure-activity relationship investigation. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 349(4), 416-421.

Ramamoorthy, S., Leibach, F., Mahesh, V., Han, H., Yang-Feng, T., Blakely, R., et al. (1994). Functional characterization and chromosomal localization of a cloned taurine transporter from human placenta. *Biochem J*, 300 ( Pt 3), 893-900.

Rennie, M., Bohé, J., Smith, K., Wackerhage, H., & Greenhaff, P. (2006). Branched-chain amino acids as fuels and anabolic signals in human muscle. *J Nutr*, 136(1 Suppl), 264S-268S.

Rohde, T., MacLean, D., Richter, E., Kiens, B., & Pedersen, B. (1997). Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *Am J Physiol*, 273(1 Pt 1), E85-91.

Rutherford JA, Spriet LL, and Stellingwerff T. The effect of acute taurine ingestion on endurance performance and metabolism in well-trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 20: 322-329, 2010.

Segal, S., & Brooks, G. (1979). Effects of glycogen depletion and work load on postexercise O<sub>2</sub> consumption and blood lactate. *J Appl Physiol*, 47(3), 514-521.

Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., Nagasaki, M., Obayashi, M., Li, Z., Li, Z., Xu, M., Sato, Y., Kato, T., Shimomura, N., Fujitsuka, N. (2000). Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 46(2), 71-77.

Shimomura, Y., Yamamoto, Y., Bajotto, G., Sato, J., Murakami, T., Shimomura, N., Kobayashi, H., Mawatari, K. (2006). Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *J Nutr*, 136(2), 529S-532S.

- Sjovall, J. (1959). Dietary glycine and taurine on bile acid conjugation in man; bile acids and steroids 75. *Proc Soc Exp Biol Med*, 100(4), 676-678.
- Takekura H., Tanaka H., & Watanabe M. (1986). Effect of taurine on glycolytic and oxidative enzyme activities of rat skeletal muscle. *Sulfur Amino Acids*, 9(1), 125-132.
- Tallon, M., Harris, R., Maffulli, N., & Tarnopolsky, M. (2007). Carnosine, taurine and enzyme activities of human skeletal muscle fibers from elderly subjects with osteoarthritis and young moderately active subjects. *Biogerontology*, 8(2), 129-137.
- Tsuboyama-Kasaoka, N., Shozawa, C., Sano, K., Kamei, Y., Kasaoka, S., Hosokawa, Y., et al. (2006). Taurine (2-aminoethanesulfonic acid) deficiency creates a vicious circle promoting obesity. *Endocrinology*, 147(7), 3276-3284.
- Turinsky, J., & Long, C. (1990). Free amino acids in muscle: effect of muscle fiber population and denervation. *Am J Physiol*, 258(3 Pt 1), E485-491.
- Yamamoto, S. (1994). Oral taurine therapy for painful muscle cramp in liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 89(3), 457-458.
- Yatabe, Y., Miyakawa, S., Miyazaki, T., Matsuzaki, Y., & Ochiai, N. (2003). Effects of taurine administration in rat skeletal muscles on exercise. *J Orthop Sci*, 8(3), 415-419.
- You, J., & Chang, K. (1998). Effects of taurine supplementation on lipid peroxidation, blood glucose and blood lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Adv Exp Med Biol*, 442, 163-168.

Zhang, M., Bi, L., Fang, J., Su, X., Da, G., Kuwamori, T., et al. (2004). Beneficial effects of taurine on serum lipids in overweight or obese non-diabetic subjects. *Amino Acids*, 26(3), 267-271.

Zhang, M., Izumi, I., Kagamimori, S., Sokejima, S., Yamagami, T., Liu, Z., et al. (2004). Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men. *Amino Acids*, 26(2), 203-207.

尾崎正若，丹羽正美，魏麗貞，土山秀夫，馬渡一雄，山城勝美. (1980). 実験的高血圧ラットに対する Taurine の効果について. *含硫アミノ酸*, 3, 115-121.

小野三嗣，渡辺雅之，長尾憲樹，束原昌郎，山本隆宜，春日規克，田中弘之，原英喜，湊久美子，外山寛，西牧正行，松山隆一，野坂和則，中村恵子. (1981). 運動時代謝に及ぼす Taurine の影響. *含硫アミノ酸*, 4, 105-110.

姜進，槇永剛一，曾我文久. (1985). デュシェンヌ型筋ジストロフィー症に対する taurine の臨床効果. *含硫アミノ酸*, 8(2), 453-460.

木村郁夫. (1996). 魚介類. *臨床スポーツ医学 (The journal of clinical sports medicine)*, 13, 353-355.

金奉基，馬場明道，岩田平太郎. (1984). 骨格筋における Taurine の挙動に対する除神経の効果. *含硫アミノ酸*, 7(1), 153-156.

金奉基，馬場明道，岩田平太郎. (1985). 骨格筋における筋活動と Taurine の動態. *含硫アミノ酸*, 8(2), 441-445.

久保田和彦, 早乙女秀雄. (1974). Taurine の疲労マウス血糖低下防止と運動持久性に及ぼす効果. *応用薬理*, 8(7), 887-894.

倉地道雄, 吉原恵子, 相原弘和. (1981). カエル摘出脊髄におけるアミノ酸の反応に対する Taurine の影響. *含硫アミノ酸*, 4, 83-87.

倉地道雄, 相原弘和. カエル摘出脊髄の運動ニューロンに対する Taurine の抑制作用. *含硫アミノ酸* 8: 435-439, 1985.

小西真人, 栗原敏, 小林啓三. (1984). 骨格筋・心筋細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  transient と収縮張力に及ぼす Taurine の効果. *含硫アミノ酸*, 7(1), 145-152.

高橋良当, 岩本安彦. (1998). こむら返りと糖尿病. *Diabetes Journal: 糖尿病と代謝*, 26(2), 78-80.

竹倉宏明, 田中弘之, 湊久美子. (1985). Taurine 投与がラット骨格筋代謝特性に及ぼす影響. *含硫アミノ酸*, 8(2), 447-452.

田中弘之, 渡辺雅之, 竹倉宏明. (1984). Taurine がラット脂肪組織分解能に及ぼす影響. *含硫アミノ酸*, 7(1), 193-200.

田中弘之, 竹倉宏明, 渡辺雅之. (1985). Taurine がトレーニングラット脂肪組織分解能に及ぼす影響. *含硫アミノ酸*, 8(2), 481-488.

堤達也. (1985). 運動が内分泌系にあたえる効果 (運動が心身におよぼす効果<特集>). *体育の科学*, 35(10), p767-771.

中嶋俊彰, 瀧野辰郎, 栗山欣也. (1981). Taurine 投与による肝過酸化脂質生成の変化とその Calcium 動態との関連性について. *含硫アミノ酸*, 4, 157-165.

丹羽正美, 川口昭男, 国貞景子, 尾崎正若, 栗原正紀. (1981). taurine の高血圧作用 (II) SHRSP を使った実験. *含硫アミノ酸*, 4, 177-181.

福井義弘, 馬場明道, 岩田平太郎. (1986). ラット骨格筋 Taurine 動態の発育による変化. *含硫アミノ酸*, 9(1), 121-123.

福井義弘, 鹿野俊朗, 馬場明道. (1987). 骨格筋の収縮に対する Taurine の作用. *含硫アミノ酸*, 10(1), 123-126.

松崎靖司, 田中直見, 山口高史. (1990). タウリン投与により筋痙攣が消失した肝硬変の症例. *肝臓*, 31(12), 1464-1469.

守田哲朗. (1996). 小児栄養におけるタウリンの意義. *小児科*, 37(12), 1419-1427.

安田雄, 寺尾章. (1993). 筋クランプ. *医学と薬学*, 29(2), 368-372.

矢田部 佳久, 宮川 俊平, 大森 肇. (2006). 筋疲労とタウリン (特集 スポーツの疲労と予防策). *Journal of health, physical education and recreation*, 56(9), 705-709.

山路 啓司. (1992). *最大酸素摂取量の科学*. 東京: 杏林書院.

吉野佳一, 茂在敏司. (1973). 進行性筋ジストロフィー症の筋遊離アミノ酸およびニンヒドリン陽性関連物質. *臨床神経*, 13, 759-766.



渡辺雅之，湊久美子，小野三嗣. (1987). 身体運動下の代謝に及ぼす Taurine の影響. 含硫アミノ酸, 10(1), 183-186.